



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA, INOVAÇÃO E TECNOLOGIA
PARA A AMAZÔNIA - CITA

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E ESPECTROSCÓPICA DO
ÓLEO DE TUCUMÃ (*Astrocaryum aculeatum* Meyer) VISANDO
APLICAÇÕES NANOBIOtecnológicas

NAJARA VIDAL PANTOJA

RIO BRANCO – AC

2013

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA, INOVAÇÃO E TECNOLOGIA
PARA A AMAZÔNIA - CITA

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E ESPECTROSCÓPICA DO ÓLEO DE
TUCUMÃ (*Astrocaryum aculeatum* Meyer) VISANDO APLICAÇÕES
NANOBIOtecnológicas

NAJARA VIDAL PANTOJA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência, Inovação e Tecnologia para a Amazônia, da Universidade Federal do Acre, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre *Stricto Sensu* em Ciências.

Área de Concentração: Ciência e Inovação Tecnológica

Orientador _____

Professor Dr. Anselmo Fortunato Ruiz Rodriguez

Coorientador _____

Professor Dr. Fernando Sergio Escócio Drummond Viana de Faria

Rio Branco – Acre

Setembro 2013

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA, INOVAÇÃO E TECNOLOGIA
PARA A AMAZÔNIA – CITA

NAJARA VIDAL PANTOJA

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E ESPECTROSCÓPICA DO ÓLEO DE
TUCUMÃ (*Astrocaryum aculeatum* Meyer) VISANDO APLICAÇÕES
NANOBIOOTECNOLÓGICAS

DISSERTAÇÃO APROVADA EM: 18 de julho de 2013

Professor Dr. Anselmo Fortunato Ruiz Rodriguez
(Orientador – CCBN/UFAC)

Professor Dr. Ilmar Bernardo Graebner
(Examinador– CCBN/UFAC)

Professor Dr. Carromberth Carioca Fernandes
(Examinador– CCBN/UFAC)

Aos meus pais, Maria de Nazaré Vidal Pantoja e
Raimundo Braga Pantoja.

Tesouros da minha vida.

Caminhei até aqui com eles, para eles e por eles.

AGRADECIMENTOS

Antes de tudo e de todos ao que me deu vida para aprender, saúde para lutar, forças para vencer e provações para evoluir, Deus Pai Eterno e Todo Poderoso.

Aos meus pais, Raimundo Braga Pantoja e Maria de Nazaré Vidal Pantoja, a irmã Nara Vidal Pantoja e ao cunhado Anderson Peixoto Amparo.

Ao orientador Dr. Anselmo Fortunato Ruiz Rodriguez e ao coorientador Fernando Escócio Drummond Viana de Farias pelo apoio científico na realização do trabalho. E a todo o Grupo de Pesquisa em Nanociência, Nanotecnologia e Nanobiotecnologia (N&N&Nb) e ao INCT em Nanobiotecnologia pelo auxílio na realização de medidas espectroscópicas.

A Universidade Federal do Acre, sobretudo ao PPG em Ciência, Inovação e Tecnologia para a Amazônia, pela chance em continuar minha formação acadêmica.

A CAPES por conceder bolsa de estudo.

Aos professores do Curso de Química pelos incentivos que sempre recebi.

A professora Dra. Anelise Maria Regiani por me iniciar na vida científica e da qual me considero uma discípula.

Aos professores Dr. Igor Degterev e Dr. Jorge Ferreira Kusdra pelos apoios.

Aos membros da banca examinadora pelas contribuições realizadas.

Ao pesquisador Dr. Evandro Ferreira pela ajuda na busca e coleta dos frutos.

A Unidade de Tecnologia de Alimentos da UFAC pela receptividade oferecida.

Ao Departamento de Polícia Civil e a Superintendência da Polícia Federal no Estado do Acre por nos receber em seus laboratórios e auxiliar nas análises.

Ao Professor Dr. Sebastião Wiliam da Silva do Instituto de Física da UnB, pelas medidas de infravermelho.

A Fundação de Tecnologia do Acre pelos auxílios fornecidos.

A parceira de mestrado Sâmara Regina Santana Albuquerque por não permitir que este caminho fosse trilhado solitariamente e auxiliar dia após dia desde a entrada até a entrega final deste material.

Ao namorado Adriano Gabriel Lima Verde pelo amor e carinho, e por estar ao meu lado.

Aos ombros amigos que encontrei: Daniel Filho, Jason Jerry, João Paulo Cunha, Marcelo Dayron, Oscar Condo, Rutilene Barbosa, Tatiana Sahi e Uiara Ferraz.

Ninguém me disse que seria fácil.
Ninguém me disse que seria tão difícil.
Mas também, ninguém me disse que eu não conseguiria.

RESUMO

O interesse em realizar estudos sobre determinadas espécies de palmeiras surge, do fato, de que elas são produtivas e abundantes e estão presentes na alimentação de povos tradicionais. Entre as palmeiras que estão apresentando avanço em P&D&I está a *Astrocaryum aculeatum* Meyer, conhecida popularmente como Tucumanzeiro. Com o objetivo de contribuir para ampliar o conhecimento das propriedades do óleo dessa espécie e predizer possíveis aplicações é que se propôs a caracterização físico-química e espectroscópica do óleo da polpa da *Astrocaryum aculeatum* Meyer. Os frutos de Tucumã foram coletados em uma propriedade rural situada às margens da BR 317, no município de Capixaba – AC. A polpa foi submetida à secagem em estufa e o material seco foi triturado e submetido à extração por solvente a quente. O óleo obtido foi analisado quanto aos índices de acidez, peróxido, iodo, saponificação, densidade, refração e viscosidade e também realizamos medidas espectroscópicas como espectroscopia de Ultravioleta Visível (UV-VIS), espectroscopia de infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR), Luminescência, Lente Térmica, Raios X por energia dispersiva (EDX) e cromatografia gasosa. Para maiores conhecimentos das propriedades deste óleo determinou-se o perfil de atividade antioxidante por DPPH. Realizou-se ensaios para o preparo de nanoemulsão do tipo óleo em água (O/A), utilizando-se óleo de polpa de tucumã, copolímero poli(L-ácido láctico-co-ácido glicólico), PLGA, tensoativo álcool polivinílico, PVA e solvente orgânico. Todos os resultados obtidos para análises físico-químicas estavam em concordância com valores preconizados pela ANVISA, viabilizando seu uso também na alimentação humana. Referente ao índice de iodo comprovou-se que o óleo de polpa de Tucumã não sofreu oxidação térmica, em concordância também com o espectro de ultravioleta visível obtido. A região no ultravioleta-visível que mais apresentou absorção foi exatamente o comprimento de onda referente ao β -caroteno, além de serem observados os picos referentes aos ácidos oleico e palmítico. A presença destes constituintes também foi confirmada por meio dos espectros de infravermelho e fotoluminescência. Através das medidas de fluorescência de raios X por energia dispersiva foi possível determinar que o componente metal majoritário da amostra, o enxofre. Foi possível obter os quantitativos graxos presentes no óleo de polpa de Tucumã. Comparando os óleos de polpa de Tucumã e Buriti, para atividade antioxidante, constatou-se que o primeiro apresentou atividade 5 vezes superior ao segundo. As emulsões obtidas nos ensaios possuíam aparência esperada para uma emulsão em escala nanométrica. Desta maneira, através das análises empregadas podem-se detectar os componentes majoritários do óleo e concluir que é uma importante matéria-prima a ser empregada em produtos nanobiotecnológicos.

Palavras-chave: *Astrocaryum aculeatum* Meyer. Óleos vegetais. Nanobiotecnologia.

ABSTRACT

The interest to study certain species of palms comes from the fact that they are productive and abundant and are present in the dietary of traditional people. The *Astrocaryum aculeatum* Meyer, popularly known as Tucumanzeiro, is among the palm trees that are showing progress in R & D & I. Aiming to contribute and broaden the knowledge on the oil properties of this species and predict possible applications, it was proposed the physical-chemical and spectroscopic characterization of the oil pulp from the *Astrocaryum aculeatum* Meyer. Fruits of Tucumã were collected on a rural property located along the BR 317, in the municipality of Capixaba - AC. The pulp was subjected to oven drying and the dried material was crushed and subjected to hot solvent extraction. The oil obtained was analyzed for the levels of acidity, peroxide, iodine, saponification, density, refraction and viscosity and by using spectroscopic measurements like ultraviolet visible spectroscopy, infrared spectroscopy, luminescence, thermal lens, X-ray dispersive energy and gas chromatography. For further knowledge on the properties of this oil, the profile of antioxidant activity by DPPH was determined. Assays were carried out to prepare nanoemulsion of oil-in-water (O / W), using oil pulp of Tucumã, co-polymer (L-lactic acid-co-glycolic acid), PLGA, polyvinyl alcohol surfactant, PVA and an organic solvent. All results obtained by physical-chemical analyzes were in agreement with values established by ANVISA, thus enabling its use in human food. Regarding the iodine level, it was proved that the oil pulp from Tucumã did not suffer thermal oxidation, as in agreement with the visible ultraviolet spectrum obtained. The ultraviolet-visible region that showed the highest absorption was the wavelength of β -carotene, and in addition it was observed peaks related to oleic and palmitic acids. The presence of these components was also confirmed by the IR and photoluminescence spectra. By measuring the fluorescence X-ray using dispersive energy, it was possible to determine that the majority of the metal component in the sample was the sulfur. It was possible to obtain quantitative acids present in the oil pulp of Tucumã. Comparing oils of Tucumã and Buriti pulp for antioxidant activity, it was found that the former showed activity 5 times higher than the second. The emulsions obtained in the assays had expected appearance for an emulsion at the nanoscale. Thus, through these analyses it is possible to detect the major components of oil and conclude that it is an important raw material to be used in nanobiotechnology products.

Keywords: *Astrocaryum aculeatum* Meyer. Vegetable oils. Nanobiotechnology

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Palmeira de Tucumã (<i>Astrocaryum aculeatum</i>)	17
Figura 2. Frutos de Tucumã	18
Figura 3. Palmeira de tucumã em área de pastagem	21
Figura 4. Imagem de satélite fornecida pelo <i>software Google Earth</i> , destacando o Estado do Acre	22
Figura 5. Artesanato com palha de Tucumã	22
Figura 6. Polpa de tucumã e fruto com corte transversal.....	23
Figura 7. Frutos inteiros e com corte transversal e sementes despulpadas de tucumã	24
Figura 8. Óleo de Tucumã	27
Figura 09. Estrutura química do ácido oleico em 2D e 3D	30
Figura 10. Estrutura química do β -caroteno em 2D e 3D	31
Figura 11. Modos normais de vibração de uma molécula de água	35
Figura 12. Imagem de satélite fornecida pelo <i>software Google Earth</i> , destacando a área de coleta dos frutos de Tucumã	43
Figura 13. Coleta dos frutos de Tucumã	43
Figura 14. Polpa do fruto do Tucumã durante a secagem	44
Figura 15. Polpa do fruto do Tucumã seca e triturada	44
Figura 16. Extrator de óleos e graxas soxhlet	45
Figura 17. Óleo da polpa de Tucumã após recuperação do solvente	46
Figura 18. Farinha de polpa de Tucumã após extração de óleo	46
Figura 19. Amostras em diferentes concentrações de óleo de Tucumã usadas na curva de calibração	52
Figura 20. Espectrofotômetro de ultravioleta-visível utilizado nas medidas	52
Figura 21. FTIR espectrofotômetro usado nas medidas	53
Figura 22. Realização da medida de espectroscopia de raios X	55
Figura 23. Espectrofotômetro de fluorescência de raios X por energia dispersiva utilizando neste trabalho	56
Figura 24. Cromatógrafo gasoso acoplado a espectrômetro de massas	57
Figura 25. Sistema sob agitação durante o preparo de nanoemulsão com óleo de polpa de Tucumã	59
Figura 26. Sistemas obtidos no preparo de nanoemulsão	75

LISTA DE EQUAÇÕES

- (1) $A = -\log T = \frac{\log P_0}{P} = \varepsilon bc$ 33
- (2) $I.A. = \frac{v \times f \times 5,61}{p}$ 48
- (3) $I.P. = \frac{(A - B) \times N \times f \times 1000}{p}$ 48
- (4) $I.I. = \frac{(B - A) \times f \times 1,27}{p}$ 49
- (5) $I.S. = \frac{v \times f \times 28}{p}$ 50
- (6) $AA(\%) = 100 - \frac{[(Abs_{amostra} - Abs_{branco}) \times 100]}{Abs_{controle}}$ 58
- (7) $D = \frac{\varpi_{\sigma e}^2}{4t_c}$ 69

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Curva de calibração do óleo de polpa de Tucumã no ultravioleta-visível	63
Gráfico 2. Espectro de absorbância para concentração de 0,25% de óleo	63
Gráfico 3. Espectro de absorbância para concentração de 0,5% de óleo	64
Gráfico 4. Espectro de absorbância do óleo de polpa de Tucumã	65
Gráfico 5. Espectro de absorção no infravermelho na região de 350-4500 cm^{-1} para óleo de polpa de Tucumã	66
Gráfico 6. Espectro de absorção no infravermelho na região de 500-2000 cm^{-1} para óleo de polpa de Tucumã	66
Gráfico 7. Espectro de emissão de óleo de polpa de Tucumã	68
Gráfico 8. Desempenho da cintura do feixe de prova ao longo do eixo z e parâmetros necessários para medidas de lente térmica	68
Gráfico 9. Diâmetro do feixe de excitação para o laser de argônio (457 nm) ao longo do eixo z	69
Gráfico 10. Amplitude do sinal de lente térmica por potência de entrada para o óleo de polpa de Tucumã	70
Gráfico 11. Perfil cromatográfico para o óleo da polpa de Tucumã	72

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Análises centesimais da polpa de tucumã	25
Tabela 2. Caracterização físico-química do óleo da polpa de tucumã	27
Tabela 3. Composição de ácidos graxos do fruto de tucumã em 100 g de amostra	30
Tabela 4. Caracterização físico-química do óleo da polpa de Tucumã	61
Tabela 5. Determinação quantitativa de metais no óleo de polpa de Tucumã	71
Tabela 6. Composição em ácidos graxos do óleo da polpa do Tucumã e tempos de retenção	73
Tabela 7. Valores de CE ₅₀ obtidos na análise das amostras	74

LISTA DE SIGLAS

A/O - Água em óleo
AA - Atividade antioxidante
AgCl - cloreto de prata
ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CCl₄ - Tetracloreto de carbono
CE₅₀ - concentração efetiva 50%
CG-EM - Cromatografia gasosa acoplada a detector de espectrometria de massas
DPPH - 1,1-difenil-2-picrilidrazil
DFPT – Diagrama de fase pseudoternário
EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FT-IV - Espectrômetro de Infravermelho por Transformada de Fourier
INPA - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia
IV - Espectroscopia no infravermelho
KBr - brometo de potássio
KI - Iodeto de potássio
LT - lente térmica
MEV - Microscopia eletrônica de varredura
N&N&Nb - Grupo de Pesquisa em Nanociência, Nanotecnologia e Nanobiotecnologia
NaCl – Cloreto de sódio
O/A – Óleo em água
P&D&I - Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação
PESACRE - Grupo de Pesquisa e Extensão em Sistemas Agro Florestais do Acre
PLGA - poli(L-ácido láctico-co-ácido glicólico)
PVA - álcool polivinílico
UFAC - Universidade Federal do Acre
UFPA - Universidade Federal do Pará
UFU - Universidade Federal de Uberlândia
UnB - Universidade de Brasília
UNIR - Universidade Federal de Rondônia
UTAL - Unidade de Tecnologia de Alimentos
UV-vis - Espectrometria de absorção no ultravioleta/visível

LISTA DE SÍMBOLOS

cm – centímetro

% - porcentagem

m – metro

mm – milímetro

g – gramas

mg – miligramas

kcal – quilocalorias

m.Pa.s – centiPoise

μg - microgramas

M – molar

nm – nanômetro

s – segundo

km – quilômetro

°C – graus Celsius

mL – mililitro

N – normal

μm – micrometro

Hz – hertz

μL - microlitro

mM – milimolar

rpm – rotações por minuto

λ – comprimento de onda

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	20
2.1 TUCUMÃ (<i>Astrocaryum aculeatum</i>)	20
2.1.1 Características da palmeira	20
2.1.2 Localização	21
2.1.3 Utilização	22
2.1.4 Manejo e reprodução da espécie	23
2.1.5 Frutos	24
2.1.6 Óleo	26
2.1.7 Ácidos graxos	29
2.1.8 Carotenóides	31
2.2 MÉTODOS ESPECTROMÉTRICOS	32
2.2.1 Lei de Beer	32
2.2.2 Espectrometria de absorção no ultravioleta-visível (UV-vis)	34
2.2.3 Espectrometria no infravermelho	35
2.2.4 Espectrometria de luminescência	37
2.2.5 Lente térmica	38
2.2.6 Raios X por energia dispersiva	38
2.3 CROMATOGRAFIA GASOSA	39
2.4 NANOEMULSÕES COM ÓLEO VEGETAL	41
3 MATERIAL E MÉTODOS	43
3.1 EXTRAÇÃO DO ÓLEO	44
3.2 DETERMINAÇÕES ANALÍTICAS	47
3.2.1 Caracterização físico-química	47
3.2.1.1 Índice de acidez	47
3.2.1.2 Índice de peróxido	48
3.2.1.3 Índice de iodo	49
3.2.1.4 Índice de saponificação	49

3.2.1.5 Densidade do óleo	50
3.2.1.6 Índice de refração	50
3.2.1.7 Viscosidade	51
3.2.2 Caracterização espectroscópica	51
3.2.2.1 Ultravioleta/visível	51
3.2.2.2 Infravermelho	53
3.2.2.3 Luminescência	54
3.2.2.4 Lente térmica	54
3.2.2.5 Raios X por energia dispersiva	55
3.3 CROMATOGRAFIA GASOSA	56
3.4 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	57
3.5 PREPARO DE NANOEMULSÃO	58
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	60
4.1 DETERMINAÇÕES ANALÍTICAS	60
4.1.1 Caracterização físico-química	60
4.1.2 Caracterização espectroscópica	62
4.1.2.1 Espectroscopia de ultravioleta visível (UV-vis)	62
4.1.2.2 Espectroscopia de infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR)	65
4.1.2.3 Luminescência	67
4.1.2.4 Lente Térmica (LT)	68
4.1.2.5 Raios X por energia dispersiva (EDX)	70
4.1.3 Cromatografia gasosa e espectrometria de massa	71
4.2 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE POR DPPH	73
4.3 PREPARO DE NANOEMULSÃO	75
5 CONCLUSÕES	76
REFERÊNCIAS	77

1 INTRODUÇÃO

Espécies de palmeiras nativas da região Amazônica tem sido alvo de estudos em Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação (P&D&I) desde o fim da década de 1970. Os resultados dessas pesquisas vão desde os mais satisfatórios resultados aos de fracasso geral. O interesse em realizar estudos sobre determinadas espécies de palmeiras surge, do fato, de que elas são produtivas e abundantes, foram muito importantes para a sobrevivência de comunidades indígenas e ainda estão presentes na alimentação de povos tradicionais, algumas apresentam importância econômica mundial (CLEMENT et al., 2005).

Por ser um país tropical o Brasil possui uma diversidade enorme de palmeiras que fornecem óleos excelentes. No entanto o potencial dessas palmeiras em termos de propriedades alimentícias, presença de proteínas, por exemplo, normalmente não é explorado pelas pessoas. Entre as palmeiras que estão apresentando algum avanço em P&D&I está a *Astrocaryum aculeatum* Meyer, conhecida popularmente como Tucumanzeiro, cada vez mais presente na alimentação humana.

Essa espécie de palmeira, Figura 1, pode ser encontrada em terra firme e pertencem à família *Arecaceae*. Geram frutos de cor amarelo-esverdeado com mesocarpo denso, polpa amarelada e bastante oleosa. No interior dos frutos há uma amêndoa branca que pode chegar a apresentar conteúdo de óleo que varia de 20 a 43%. A época de colheita apresenta período de alta estação entre os meses de outubro a janeiro.

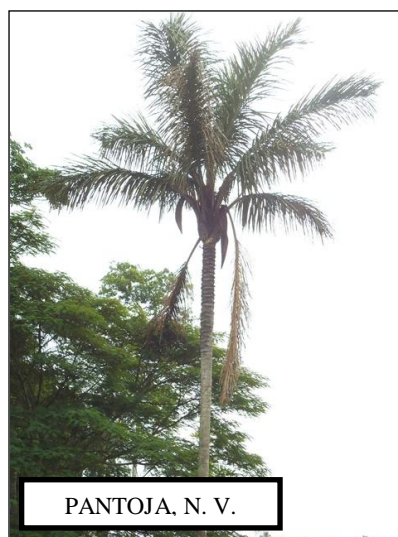


Figura 1. Palmeira de Tucumã (*Astrocaryum aculeatum*).

A espécie *Astrocaryum aculeatum* é excepcionalmente tolerante a solos pobres e degradados, e, resistente a períodos de seca. É normalmente verificada em florestas secundárias, e possui certa resistência a queimadas. Segundo FAO (1986) é comumente encontrada na Amazônia Central, mas também se espalha por toda Região Amazônica, Peru, Colômbia, Venezuela, Trinidad, Bolívia e Guiana, Guiana Francesa e Suriname.

O fruto da *Astrocaryum aculeatum*, conhecido popularmente como Tucumã, Figura 2, é abundante na Região Norte do Brasil, e, no Acre pode ser encontrado no Leste do Estado. Sua utilização na alimentação de índios e colonos nos períodos de entre safra é verificada há muito tempo e pesquisas comprovaram se tratar de fonte importante de Vitamina A, viabilizando seu emprego no tratamento da hipovitaminose A, costumeiramente verificada em crianças da região Norte.



Figura 2. Frutos de Tucumã.

O uso de óleos vegetais como o de Tucumã, em indústrias de fragrâncias, cosméticos e fitoterápicos vem gerando renda a diversas famílias em comunidades locais que fornecem suas sementes a grandes empresas. As extrações destes óleos geralmente não são realizadas nas próprias comunidades, por não ser possível obter os parâmetros de qualidade exigidos pelas indústrias. Espécies semelhantes quimicamente ao óleo Tucumã são majoritariamente usadas em protetores solares, tratamento pós-Sol, bronzeadores e antioxidantes, além de apresentarem ação antienvhecimento.

Com o objetivo de contribuir para ampliar o conhecimento das propriedades do óleo dessa espécie e predizer possíveis aplicações, tais como de preparo de nanoemulsão do tipo

óleo em água (O/A), é que se propôs a caracterização físico-química e espectroscópica do óleo da polpa da *Astrocaryum aculeatum* Meyer para aplicações nanobiotecnológicas.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Sendo o maior detentor da biodiversidade do planeta, o Brasil apresenta cerca de 30% das espécies de plantas e animais conhecidas no mundo. Nos diversos ecossistemas que compõem o país encontram-se as palmeiras e, entre elas, as mais antigas da Terra (CAMBION, 2001). Estas palmeiras são características e marcantes na flora tropical, podem sobreviver também em outros diferentes tipos de ambientes como: mangues, savanas, desertos e florestas tropicais. Segundo Haynes e McLaughlin (2000) são a terceira mais importante família de plantas usadas pelo homem. Entre as palmeiras encontradas nas florestas brasileiras encontra-se o Tucumã, que é o objeto desta pesquisa com aplicações nanobiotecnológicas.

2.1 TUCUMÃ (*Astrocaryum aculeatum*)

Muito utilizada por comunidades nativas na Região Norte por tratar-se de um fruto com características promissoras tanto para uso fitoterápico assim como para a alimentação humana. As sessões a seguir abordam as propriedades mais importantes desta espécie.

2.1.1 Características da palmeira

O Tucumã é uma palmeira, Figura 3, pré-colombiana distribuída largamente, de estipe solitário, podendo atingir até 20 m de altura e 30 cm de diâmetro, com intrernós que apresentam espinhos de 15 cm ou mais de comprimento (SCHROTH et al., 2004). Suas folhas pinadas com 5 a 15 contemporâneas, ascendentes, espinhos longos e achatados de até 10 cm de comprimento cobrem a bainha, raque e pecíolo (LORENZI et al., 2004). Indivíduos monóicos, de pequeno ou grande porte, ornado com muitos espinhos, folhas pinadas e reduplicadas podendo estar irregularmente arranjadas em agrupamentos em diferentes planos. Inflorescência interfoliar, ramificadas e eretas, que apresentam em média 432 ráquulas com flores unissexuais e em tríades na parte proximal da ráquila e pistiladas (HENDERSON,

1995). As flores femininas são maiores e menos frequentes, sempre ladeadas por duas masculinas que são maiores e acontecem em maior quantidade.



Figura 3. Palmeira de tucumã em área de pastagem.

2.1.2 Localização

Além de estar presente nos estados do Acre, como apresentado na Figura 4, Amazonas, Mato Grosso, Pará, Rondônia, Roraima (LORENZI, et al., 1996), a palmeira de Tucumã também é nativo da Guiana, Peru, Venezuela, Trinidad, Bolívia e Colômbia. É uma espécie relativamente pouco estudada, mesmo com sua crescente importância econômica para pequenos produtores e coletores. Pelo fato de alguns agricultores terem começado a cultivar esta palmeira, a ocorrência de variabilidade entre as populações ficou mais evidente, comprovada pelos diferentes tamanhos de frutos, rendimento da polpa, fibras e conteúdo de óleo (HENDERSON, 1995; LOPES, 2009; RAMOS et al., 2011).



Figura 4. Imagem de satélite fornecida pelo *software Google Earth*, destacando o Estado do Acre.

2.1.3 Utilização

As comunidades nativas utilizam folhas de palmeiras como cobertura dos tetos das aldeias, para isto é necessário o emprego de muitas, principalmente pela necessidade de se refazer esta atividade periodicamente. Para que recursos vegetais e comunidades naturais sejam conservados é preciso defender a importância do conhecimento etnobotânico em programas de manejo.

As principais utilizações da palmeira e do fruto do Tucumã na região do Acre são para adubação, alimentação humana, artesanato, Figura 5, fibra, forragem, óleo comestível, madeira comercial, plantas ornamentais, entre outros (FRANKE, 1999).



Figura 5. Artesanato com palha de Tucumã (COSTA; VAN LEEUWEN, 2002).

Palmeiras, como o tucumanzeiro, além de serem empregadas na alimentação podem ser utilizadas em confecção de artesanato, ornamentação, entre outros fins, Figura 6. São importantes fontes de antioxidantes (carotenóides, antocianinas e polifenóis), tornando sua exploração economicamente viável e muito importante para a região Norte.



Figura 6. Polpa de tucumã e fruto com corte transversal.

2.1.4 Manejo e reprodução da espécie

No Estado do Acre estão sendo desenvolvidos pelo Grupo de Pesquisa e Extensão em Sistemas Agro Florestais do Acre – PESACRE - projetos de manejo com a palmeira. A metodologia empregada é baseada na junção de conhecimentos tradicionais – índios Apurinã – e técnicos – pesquisadores do PESACRE.

Em populações espontâneas de Tucumã devem ser consideradas as diferenças entre características como crescimento em altura, rendimento e qualidade dos frutos. Obter informações sobre o sistema de acasalamento desta espécie é bastante útil na orientação de programas de conservação genética e domesticação (OLIVEIRA et al., 2003). Segundo Costa e Van Leeuwen (2002) um aspecto positivo para esta espécie é sua tolerância excepcional a solos ácidos e pouco nutridos.

A germinação das sementes, Figura 7, pode ser acelerada se o endocarpo for extraído, modificando o período de germinação de dois a três anos para início aos 41 dias, com

percentual de rendimento de 66%, conforme estudo realizado por Ferreira e Gentil (2006). A água é o principal componente no processo de germinação, pois está diretamente relacionada com as atividades metabólicas que como resultado fornecem a energia e os nutrientes necessários.

Infelizmente somente uma parte das populações espontâneas geram frutos que atendem as preferências dos consumidores, além de que, algumas plantas são improdutivas ou muito altas, dificultando a coleta dos frutos. Genótipos adequados desta palmeira podem ser obtidos em produções em áreas de sistemas agroflorestais ou em sistemas de monocultura. Para o estudo das propriedades das palmeiras é possível fazer uso de marcadores moleculares. As informações que podem ser colhidas por estes marcadores vão desde a taxa de cruzamento até indicações de estratégias de seleção e conservação de recursos genéticos naturais. Marcadores moleculares permitem estudo relativamente simples dos sistemas de reprodução de espécies que não apresentam informações sobre o controle genético das características morfológicas (RAMOS et al., 2011).



Figura 7. Frutos inteiros e com corte transversal e sementes despulpadas de tucumã.

2.1.5 Frutos

Frutos de tucumã são quase esféricos e amarelo-esverdeados, variando entre subglobosos, globosos e ovoides, com diâmetro médio de 43,8 mm e comprimento 49,8 mm,

apresentam massa média de 51,6 g (PANTOJA; REGIANI, 2006). Quando ainda não estão maduros possuem líquido no interior da amêndoa. O mesocarpo tem coloração amarelo-alaranjada, compacto, firme, fibroso e oleaginoso; endocarpo pétreo, escuro, consistente e lenhoso, em geral ocorre uma semente por fruto, porém, é possível apresentar duas, estas são globulares, oblongas e raramente elipsoides, pesam de 22 a 53 g (FAO, 1986; MENDONÇA, 1996).

Os frutos são empregados na forma *in natura* para a produção de sorvetes, vinho, sanduíches, etc. Fao (1986) menciona que a polpa do fruto contém aproximadamente 9% de proteínas, 55% de gordura e presença de carotenóides equivalente a 3,5 mg/100g de fruto fresco. Os frutos e a polpa são comumente encontrados em comércios nas ruas de Manaus e, o preço chega a ser mais alto que de maçãs importadas e transportadas por vários quilômetros do sul do país (KAHN; MOUSSA, 1999). No estado do Acre o consumo do fruto fresco não é tão comum como em Manaus, mesmo assim é possível encontrar muitos apreciadores do sabor do tucumã, que consomem sua polpa *in natura*.

De acordo com a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos cada 100 g de fruto apresenta valor energético de 262 kcal, fibra alimentar igual a 12,7 g, carboidrato igual a 26,5 g, vitamina C igual a 18 mg. Devido aos elevados teores energéticos e de carboidratos a polpa possui alto valor nutritivo.

Análise centesimal da polpa pode ser obtida por meio dos teores de umidade, cinzas, lipídios, proteínas e fibras. Valores obtidos por Pantoja e Regiani (2006) são comparados com os valores obtidos por Ferreira e colaboradores (2008), Tabela 1.

Tabela 1. Análises centesimais da polpa de tucumã

Teores	Pantoja e Regiani (2006)	Ferreira et al. (2008)
Umidade (%)	72,6 ± 0,01	44,90 ± 0,30
Cinzas (%)	2,03 ± 0,01	2,53 ± 0,05
Lipídios (%)	6,40 ± 0,02	40,49 ± 0,54
Proteínas (%)	2,78 ± 0,03	3,54 ± 0,07

Pantoja e Regiani (2006) justificaram o baixo teor de lipídios observado na polpa ao fato de terem utilizados frutos com estágio de maturação ainda incompleto para a realização das análises.

A importância econômica do Tucumã está na comercialização da polpa, *in natura* ou processado (suco, licor, sorvete, etc.). É uma atividade crescente e significativa na região Norte (FERREIRA; GENTIL, 2002).

Em decorrência da alta demanda por frutos de Tucumã, algumas pesquisas sobre a espécie vêm sendo realizadas pelo Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA) e pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), sendo que a última caracterizou a palmeira como espécie prioritária para pesquisa na região do Acre.

2.1.6 Óleo

O óleo apresenta cerca de 25,6% de ácidos graxos saturados e 74,4% de insaturados. É indicado o uso em cosméticos nas formulações de óleos e gorduras, aplicação como fitoterápico para atividade anti-reumática e pró-Vitamina A. É rico em Ômega 3, 6 e 9, e, por isso comporta-se como excelente hidratante em cosméticos (AMAZONLINK, 2013).

O óleo de tucumã, Figura 8, pode ser obtido por extrações mecânicas (com prensas) ou com a utilização de solventes em sistemas de refluxo. Os solventes mais indicados são hexano e éter de petróleo. Quando não atingem o estágio de maturação completamente, o teor de óleo nos frutos tende a ser menor (PANTOJA; REGIANI, 2006).

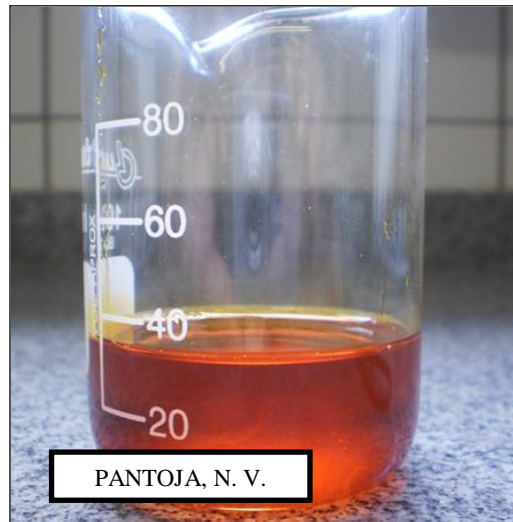


Figura 8. Óleo de tucumã.

Para caracterizar o óleo de tucumã a partir de análises físico-químicas são realizadas as determinações dos índices de: acidez, peróxido, iodo, saponificação, densidade e refração. Resultados obtidos por Pantoja e Regiani (2007) são apresentados na Tabela 2 e comparados com os resultados obtidos por Ferreira e colaboradores (2008).

Tabela 2. Caracterização físico-química do óleo da polpa de tucumã.

Índices	Pantoja e Regiani (2007)	Ferreira et al. (2008)
Acidez (mgKOH/g)	3,20 ± 0,02	5,47 ± 0,01
Peróxido (meq/kg)	3,72 ± 0,02	2,99 ± 0,02
Iodo (gI/100g)	68,50 ± 0,01	70,02 ± 0,01
Saponificação (mgKOH/g)	100,20 ± 0,25	202,71 ± 0,36
Densidade a 24 °C (g/mL)	1,30	0,91
Refração a 40 °C	1,20	1,47

O índice de acidez refere-se diretamente a natureza e qualidade da matéria-prima, com a qualidade e pureza do óleo, com o processamento e principalmente com o estado de conservação ou a degradação do óleo. Um processo de degradação seja por hidrólise, oxidação ou fermentação altera a concentração dos íons hidrogênio na amostra. Elevados índices informam decomposição avançada e alteração das propriedades físicas e químicas originais do óleo. Tal decomposição pode ser acelerada pela ação da temperatura e da luz. O índice de peróxido está ligado ao tempo de exposição ao oxigênio, a altas temperaturas e a formação de hidroperóxidos. Trata-se de um dos métodos mais utilizados para conhecer o estado de oxidação de óleos e gorduras (COSTA, 2006). Óleos que apresentam maior quantidade de ácidos graxos insaturados do que saturados, é mais propício aos processos oxidativos (NOGUEIRA, et al., 2010).

Na determinação do índice de iodo se conhece o número de gramas de iodo absorvido por 100 g de óleo. Indica o grau de insaturação dos ácidos graxos presentes na gordura, quando maior a insaturação de um ácido graxo, maior é a sua capacidade em absorver iodo e assim maior será o valor obtido para o índice (COSTA, 2006).

Realizando a reação de saponificação é possível conhecer o grau de deterioração e a estabilidade de um óleo vegetal. É a quantidade de mg de hidróxido de potássio (KOH) necessária para saponificar os ácidos graxos de um grama da amostra hidrolisado. É viável para determinar a presença de óleos e gorduras de alta proporção de ácidos graxos e de baixo peso molecular, por ser inversamente proporcional tem-se que quanto menor o peso molecular do ácido graxo maior será o índice de saponificação.

A densidade é a relação entre a massa de uma substância e o volume que ela ocupa. Esta determinação é importante para a definição de equipamentos de manuseio, posto que as forças de atração entre as moléculas determinam tanto a densidade como outras propriedades físicas de determinada substância. Pode ser determinada com a utilização de um recipiente de vidro resistente (calibrado) denominado picnômetro.

A determinação do índice de refração é empregada como critério de qualidade e identidade do óleo. Aumenta como o índice de iodo e pode ser aplicado no controle de processos de hidrogenação de óleos insaturados. Óleos e gorduras apresentam poderes de refração diferentes e podem (de acordo com suas naturezas) desviar com maior ou menos intensidade os raios luminosos que os atravessam (MORETTO; FETT, 1998).

A viscosidade absoluta de uma substância é medida por um sistema de geometria não influenciado pela gravidade, expressa em unidades de Poise ou centiPoise (m.Pa.s). Pode ser

definida como uma resistência ao escoamento (COSTA, 2006). De acordo com Moretto e Fett (1998) a viscosidade aumenta com o comprimento das cadeias dos ácidos graxos dos triglicerídeos e diminui quando aumenta a insaturação.

2.1.7 Ácidos graxos

Ácidos graxos são ácidos carboxílicos, apresentam uma cadeia carbônica com o grupo funcional carboxila na extremidade. Tem grande variação quanto ao número de carbonos na cadeia e as presenças e posições das duplas ligações. É pelo tamanho da cadeia que se determina as classificações dos ácidos graxos: a) cadeia curta: de dois a quatro átomos de carbono; b) cadeia média: de seis a dez átomos de carbono; c) cadeia longa: acima de doze átomos de carbono (GRAZIOLA et al., 2002). Quando não há ocorrência de dupla ligação denominam-se saturados, havendo uma ou mais duplas ligações passam a ser classificados como insaturados.

Estes ácidos geralmente são monocarboxílicos e apresentam número par de átomos de carbono.

De acordo com a metodologia aplicada à composição em ácidos graxos em 100 g do fruto é de 4,7 g de saturados, 9,7 g de monoinsaturados e 0,9 g de poli-insaturados (UNICAMP, 2011). Valores baixos de ácidos graxos poli-insaturados indicam que o óleo apresenta maior estabilidade oxidativa. Carvalho (2011) comparou os valores percentuais destes ácidos nos óleos de buriti, castanha-do-brasil, soja e azeite de oliva, indicando valores de 4,6%, 5,1%, 61% e 11,5%, respectivamente. Pela análise destes valores comprova-se que conforme conhecimentos empíricos sobre os tipos de óleos mais comumente usados, aquele que apresenta tendência mais forte à oxidação é realmente o óleo de soja.

Na Tabela 3, são apresentadas as quantidades de alguns ácidos graxos presentes no fruto de Tucumã.

Tabela 3. Composição de ácidos graxos do fruto de tucumã em 100 g de amostra (UNICAMP, 2011)

Ácido graxo	Composição*	Quantidade (g)
Oléico	18:1	9,62
Palmítico	16:0	3,18
Estearico	18:0	1,18
Gadoléico	20:1	0,06
Araquídico	20:0	0,25
Lignocérico	24:0	0,02
Behênico	22:0	0,02
Mirístico	14:0	0,02

*Indica o número de átomos de carbonos a quantidade de insaturações presentes na cadeia

O ácido graxo presente em maior quantidade na polpa do Tucumã é o ácido oleico, Figura 9, em duas dimensões (2D) e três dimensões (3D), apresenta cadeia longa com 18 átomos de carbono e é insaturado, pertence a classe de compostos orgânicos que origina os lipídeos, que são de importância vital na construção da membrana celular. Estão presentes na epiderme e protegem a pele da desidratação.

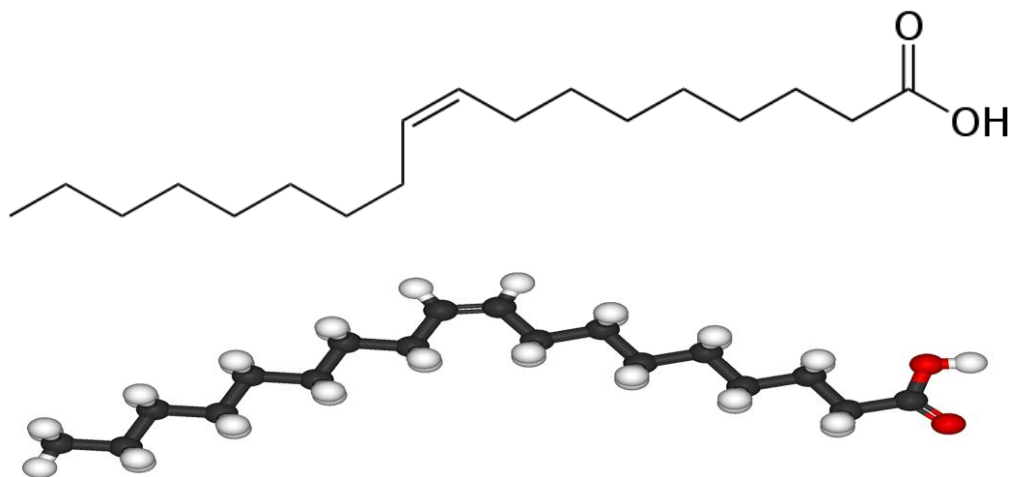


Figura 9. Estrutura química do ácido oleico em 2D e 3D.

2.1.8 Carotenóides

Os carotenóides são uma classe de pigmentos naturais encontrados em alguns frutos responsáveis pela coloração amarelo-alaranjado de alguns alimentos, entre eles se destaca o β -caroteno, mostrado na Figura 10, em duas dimensões (2D) e (3D). Além de influenciar na coloração, os carotenóides apresentam importantes ações e funções fisiológicas, a mais conhecida é o fato de serem precursores da vitamina A. A ingestão de alimentos que contém carotenóides tem sido relacionada com a prevenção de algumas doenças degenerativas, como o câncer, as doenças cardiovasculares, entre outras (ROSSO; MERCADANTE, 2007). Yuyama et al. (2008) verificaram que o teor de β -caroteno no fruto in natura é em média 10.286,38 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ e na farinha é 12.063,29 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ e quando comparado com cenoura e abóbora, estudadas por Godoy e Rodrigues-Amaya (1987), o fruto do tucumã mostrou-se 339,5% superior à cenoura cozida, 311,7% à cenoura fresca, 478,0% superior à abóbora cozida.

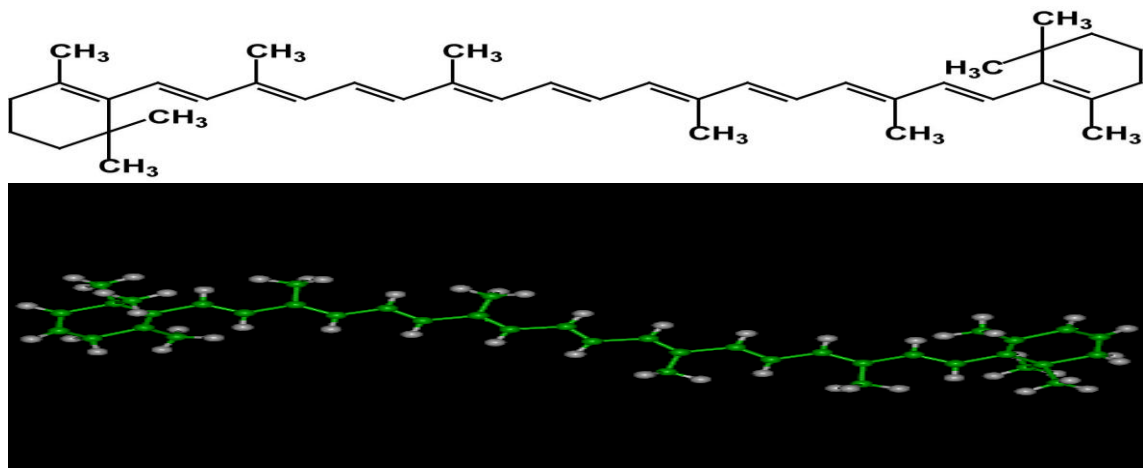


Figura 10. Estrutura química do β -caroteno em 2D e 3D.

Alguns autores (LEE; MIN, 1998; WARNER; FRANKEL, 1987) atribuem ao β -caroteno a capacidade de reduzir o nível de oxidação dos óleos vegetais, o que é muito importante para sua conservação, sabendo que a oxidação altera a composição inicial da

matéria-prima originando novos componentes que podem ocasionar doenças cardiovasculares (REDA; CARNEIRO, 2009).

Esta característica situa o fruto do Tucumã como importante aliado no combate a hipovitaminose A e a desnutrição proteica, doenças comuns nas regiões Norte e Nordeste mesmo com o fato de a região Norte, por exemplo, apresentar enormes reservas de oleaginosas nativas que fornecem frutos com alto teor de pró-vitamina A.

2.2 MÉTODOS ESPECTROMÉTRICOS

A espectroscopia é um conjunto de métodos analíticos que permite identificar a estrutura das partículas que constituem uma determinada substância. Equipamentos modernos tornam possível a detecção dos tipos e das quantidades de elementos presentes no composto, o arranjo tridimensional da molécula e tantas outras características. Atuam basicamente por meio de feixes de onda eletromagnética que incidem sobre amostragem do composto, absorvendo energia. A energia absorvida pode ser quantificada e estes valores aliados aos comprimentos de onda em que foram absorvidas são detectados pelos aparelhos e transformados em um gráfico. Analisando estes gráficos é possível prever a estrutura da molécula (BRUICE, 2006; PAVIA, et al., 2010).

Técnicas espectroscópicas têm sido aplicadas em larga escala tanto em amostras sólidas quanto as líquidas e até mesmo alguns gases, estas amostras podem ser orgânicas ou inorgânicas.

2.2.1 Lei de Beer

Nesta lei é abordada uma relação exponencial entre a transmissão de luz por meio de uma substância e sua concentração. A lei tende não ser válida para concentrações muito elevadas, principalmente se a amostra dispersa a luz incidida.

Relacionar concentração com absorção de luz é o ponto chave das análises espectroscópicas. A amostra irá absorver quantidade de luz proporcional à concentração molecular de um soluto que nela esteja presente (SKOOG, et al., 2002).

Se um bloco de material absorvente, podendo ser um sólido, líquido ou gás é incidido por um feixe paralelo de radiação monocromática com potência (P_0) perpendicularmente à sua superfície. Ao passar através da espessura do material que contem átomos, íons ou moléculas absorventes, a potência decresce (P) e este é o resultado da absorção. Por outro lado, se houver uma seção transversal do bloco com área (S) e espessura infinitesimal (dx), haverá nesta seção infinitesimais partículas absorventes em que a cada uma delas é possível imaginar uma superfície onde ocorrerá captura de fótons. Se um destes fótons atinge uma dessas áreas por acaso, a absorção deste se dará instantaneamente. A projeção total da área destas superfícies de captura é representada por dS e, a razão entre a área de captura e a área total é dS/S . Estatisticamente é a representação da probabilidade de captura de fótons dentro de uma seção (GONÇALVES, 2001; SKOOG, et al., 2002).

Matematicamente, temos a representação desta lei da seguinte maneira:

$$A = -\log T = \frac{\log P_0}{P} = \epsilon bc \quad (1)$$

O termo ϵ é denominado absortividade molar ou somente absortividade. Ela é diretamente proporcional à área de captura associada a certa partícula e depende do tipo de substância e da energia do feixe incidente (comprimento de onda) (GONÇALVES, 2001).

A lei também pode ser aplicada a uma amostra que contem mais de uma espécie de substâncias absorventes, porém, é preciso que as várias espécies não interajam, assim, a absorbância obtida será a soma das absorbâncias parciais. Por isto é possível afirmar que esta é uma lei aditiva.

Existem algumas limitações para a aplicação desta lei. Entre elas está o fato de que a lei é indicada para análises de amostras contendo concentrações baixas do analito, geralmente inferiores a 10^{-2} ou 10^{-3} M, pois, a medida em que as concentrações aumentam poderá ocorrer alteração da capacidade das moléculas em absorver um determinado comprimento de onda de radiação eletromagnética, ocorre um desvio da linearidade da lei de Beer (GONÇALVES, 2001; PAVIA, et al., 2010; SKOOG, et al., 2002).

Em medições espectrométricas os principais erros de instrumentação são o efeito da reflexão, o uso da radiação não monocromática, a radiação que se extravia, o uso de células cilíndricas e de radiação incidente não paralela. Estes erros interferem diretamente nos princípios da lei de Beer e na forma dos espectros (GONÇALVES, 2001).

2.2.2 Espectrometria de absorção no ultravioleta/visível (UV-vis)

Esta técnica faz parte da classe de métodos analíticos que se baseiam na interação da matéria com a energia radiante, relacionando luz incidente, luz emergente e luz absorvida. A região UV do espectro foi descoberta em 1801, é dividida em regiões denominadas ultravioleta próximo (400 – 300 nm), afastado (300 – 200 nm) e no vácuo (200 – 4 nm). Esta luz é produzida em processos que geram a transição de um átomo de um estado de alta energia retornando para um estado de menor energia (PAVIA, et al., 2010). Fornece informações sobre compostos com ligações duplas conjugadas, isto acarreta que somente substâncias orgânicas com elétrons π são capazes de produzir espectros de UV-vis (BRUCE, 2006; VOLLHARDT; SCHORE, 2004).

Os espectros de absorção de UV-vis apresentam geralmente bandas largas resultantes da sobreposição dos sinais derivados de transições vibracionais e rotacionais aos sinais associados às transições eletrônicas. Este espectro é registrado como um gráfico de comprimento de onda *versus* transmitância ou absorbância (utilizando o modo logarítmico,

$$A = \frac{1}{T}).$$

Em moléculas orgânicas os elétrons que contribuem para esta absorção são aqueles que participam das ligações entre os átomos (π e σ) e os elétrons externos dos átomos que não participam da formação das ligações (SKOOG et al., 2002). Como consequência, os comprimentos de onda dos picos de absorção podem ser relacionados com os tipos de ligações nas espécies estudadas, sendo assim, valiosa para identificação dos grupos funcionais de uma molécula. É possível também aplicar a espectroscopia do ultravioleta e visível para determinações quantitativas de compostos contendo grupos absorventes.

Segundo Gonçalves (2001) embora esta espectrometria raramente possa ser suficiente para identificar um dado composto orgânico sem ambiguidades, ela é bastante útil na detecção

da presença de determinados grupos funcionais cromóforos – onde parte da molécula absorve luz UV ou visível (VOLLHARDT; SCHORE, 2004; BRUICE, 2006).

2.2.3 Espectroscopia no infravermelho (IV)

A espectroscopia no infravermelho (IV) permite determinar os tipos de grupamentos funcionais presentes em uma substância.

É uma espectroscopia que não apresenta energia suficiente para produzir transições eletrônicas. A molécula deve sofrer variação no momento de dipolo durante o movimento rotacional ou direcional para que a radiação infravermelha seja absorvida, assim o campo elétrico alternado da radiação interage com a molécula causando variações na amplitude de um de seus movimentos (SILVERSTEIN, et al., 2007; SKOOG, et al., 2009a).

As ligações covalentes das moléculas encontram-se constantemente em estado de vibração, então, prever o comprimento de onda de uma determinada ligação entre dois átomos é na verdade indicar uma média dos comprimentos, pois as ligações apresentam comportamento semelhante ao de uma mola que vibra. Estas vibrações são classificadas em estiramento ou deformação angular, podendo ser assimétricas ou simétricas. Vibrações de deformação, Figura 11, podem ser: simétrica no plano (*scissor*), simétrica fora do plano (*wag*), assimétrica no plano (*rock*), assimétrica fora do plano (*twist*) ou ainda tesoura, abano, balanço e torção, respectivamente (BRUICE, 2006; FIGUEIRA, 2012; SILVERSTEIN, et al., 2007).

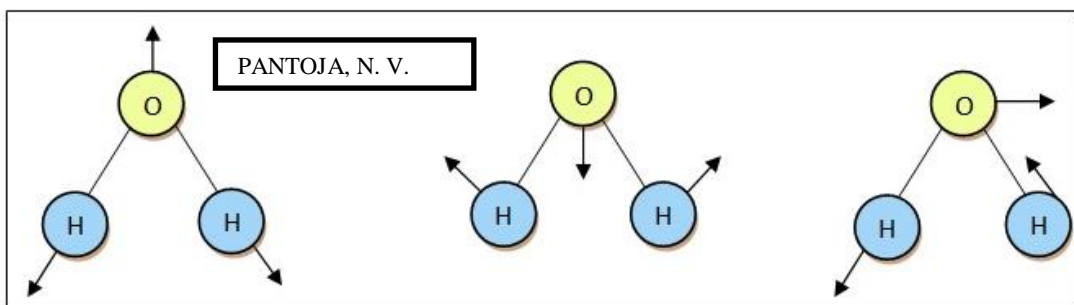


Figura 11. Modos normais de vibração de uma molécula de água. Adaptado de Figueira (2012).

Cada uma das vibrações (estiramento ou deformação angular) de uma ligação molecular acontece em uma frequência característica. Uma molécula ao ser bombardeada, com radiação eletromagnética na frequência exata de uma de suas deformações, tal molécula absorverá energia, resultando em maiores deformações de estiramento ou angulares. A absorção de energia aumenta a magnitude da deformação, porém não há modificação em sua frequência. Um meio de aplicar esta técnica é determinando os números de onda da energia absorvida por uma substância em especial é presumível os tipos de ligações que ela possui. A absorção de energia de número de onda de $\sim 1.700 \text{ cm}^{-1}$ causa uma deformação axial da ligação C=O e de $\sim 3.450 \text{ cm}^{-1}$ causa a mesma deformação em uma ligação O-H (BRUICE, 2006; SILVERSTEIN, et al., 2007).

O equipamento utilizado chama-se espectrômetro de IV. O espectro é obtido pela passagem de radiação eletromagnética na região infravermelha por uma amostra da substância a ser analisada e um detector realiza a plotagem de porcentagem de transmissão de radiação *versus* o comprimento de onda da radiação transmitida ou absorvida. Os sinais chamados de bandas de absorção representam esta absorção de energia. Existem também os espectrômetros que apresentam maior sensibilidade porque em vez de rastrear por diferentes frequências, faz a medição de todas as frequências simultaneamente. Este tipo de equipamento é chamado de espectrômetro de IV por Transformada de Fourier (FT-IV). Rastrear todas as frequências em um espectrômetro IV convencional chega a levar de 2 a 10 minutos, enquanto que, em um FT-IV o tempo estimado varia de 1 a 2 segundos (BRUICE, 2006).

Estas análises podem ser aplicadas para amostras líquidas, sólidas ou gasosas. Para as amostras líquidas pode-se obter o espectro do líquido puro – não diluído – com a adição de gotas entre duas placas ópticas de cloreto de sódio (NaCl) polidas colocadas no feixe de luz. Para amostras diluídas em solventes utiliza-se uma célula com janelas ópticas de NaCl ou cloreto de prata (AgCl) polidas. Amostras sólidas podem ser comprimidas com brometo de potássio (KBr) anidro em um disco e posicionadas no feixe de luz. Pode-se também pulverizar os sólidos e prepará-lo através da moagem de alguns miligramas em um graal (BRUICE, 2006; SILVERSTEIN, et al., 2007).

2.2.4 Espectrometria de luminescência

Fluorescência, fosforescência e fotoluminescência são termos sinônimos que descrevem excitação feita por absorção de fótons. Contudo a fluorescência apresenta curto tempo de vida, pois não envolve uma mudança de spin eletrônico. O tempo estimado de duração da luminescência é $< 10^{-5}$ s. Quando ocorre a mudança do spin eletrônico tem-se o caso da emissão por fosforescência e, neste caso a luminescência se mantém por um tempo detectável depois do término da irradiação na ordem de alguns segundos. A maioria das vezes a fotoluminescência, seja por fluorescência ou fosforescência, apresenta comprimento de onda maior que a radiação que foi usada para a excitação (GONÇALVES, 2001; SKOOG, et al., 2002; SKOOG, et al., 2009b).

Medir a intensidade da fotoluminescência é importante para a determinação das quantidades de uma série de espécies orgânicas e inorgânicas importantes a níveis de traço. O que torna esta técnica atraente é sua capacidade em ser sensível intrinsecamente, apresentando limites de detecção costumeiramente de uma a três ordens de grandeza menor que aqueles que podem ser determinados por espectroscopia de absorção. Apresenta seus limites de detecção na faixa de partes por bilhão, $\mu\text{g/l}$ (SKOOG, et al., 2002).

Além disso, possui extensa faixa de concentração linear que é frequentemente maior que aquelas encontradas nos métodos de absorção. Porém, estes métodos estão sujeitos a efeitos causados pela interferência das amostras. Por este motivo combina-se esta técnica com outras de separação da cromatografia e eletroforese – detectores para cromatografia líquida e eletroforese capilar (SKOOG, et al., 2002).

Em análises quantitativas os métodos de luminescência são menos utilizados que os métodos de absorção, pelo fato de que o número de espécies que absorvem radiação ultravioleta-visível é muito maior do que exibe fotoluminescência pela absorção de radiação nesta região do espectro (SKOOG, et al., 2002).

Um exemplo desta técnica é que elétrons 3s de átomos de vapor de sódio podem ser excitados passando para o estado 3p através da absorção de radiação com comprimento de onda específico. Ao passar um tempo que varia de 10^{-5} a 10^{-8} s estes elétrons retornam ao seu estado fundamental emitindo radiação em todas as direções dos mesmos comprimentos de onda. Quando a radiação absorvida pode ser emitida sem que haja alteração de frequência o fenômeno é denominado de radiação de ressonância ou fluorescência de ressonância.

As aplicações mais importantes da fotoluminescência envolvem as análises de produtos alimentícios, produtos naturais, amostras clínicas e fármacos.

2.2.5 Lente Térmica (LT)

Espectroscopias fototérmicas é o conjunto de técnicas experimentais que envolvem geração de calor por meio da absorção luminosa. Utilizar estas técnicas é muito importante para a caracterização de materiais. São técnicas ultrasensíveis que determinam traços e absorbâncias extremamente baixas e medem o aumento da temperatura da amostra ocasionado pela absorção luminosa (SOFFNER, 2005).

A luz absorvida pela amostra resulta na geração de calor, o que implica na mudança de temperatura e das propriedades que dela dependem. Nas medidas de lente térmica (LT) é possível visualizar que com a mudança da temperatura podem ocorrer também alterações do índice de refração de uma amostra. Esta técnica está diretamente ligada às mudanças de densidade e na polarizabilidade eletrônica do material estudado em relação ao aumento de temperatura (PASSOS, 2007).

O efeito da lente térmica é gerado pela excitação da amostra com um *laser*. Esta energia ao ser absorvida gera um aquecimento na amostra iluminada e, sendo que a intensidade é maior em seu centro, é produzida uma variação no índice de refração em função do aquecimento, variando o caminho percorrido pelo *laser* (FALCÃO, et al., 2009).

2.2.6 Raios X por energia dispersiva (EDX)

A excitação mais comum de um espectro de emissão de raios X é provocada por irradiação da amostra com um feixe de raios X de um tubo destes raios ou uma fonte radioativa. Ao serem excitados pela absorção do feixe os elementos da amostra irão emitir linhas características de fluorescência de raios X. O método é denominado fluorescência ou emissão de raios X, é um dos métodos analíticos qualitativos mais usados para identificar elementos com número atômico > 8 , podendo ser empregada também em análises

semiquantitativa ou quantitativa, tendo como vantagem a não destruição da amostra. Existem três tipos básicos de equipamentos capazes de induzir a fluorescência de raios X em uma amostra, são dispersivo de comprimento de onda, dispersivo de energia e não dispersivo. Os dois últimos podem ser compostos por um tubo de raios X ou uma substância radioativa servindo como fonte. Devido ao tipo de equipamento utilizado na execução deste trabalho, nos deteremos a discorrer sobre os instrumentos dispersivos de energia (SKOOG, et al., 2002).

Um espectrômetro dispersivo de energia é composto por uma fonte policromática (tubo de raios X ou fonte radioativa), porta amostras, detector de semicondutor e, diversos componentes eletrônicos para discriminação da energia. É um sistema vantajoso pela simplicidade e inexistência de partes móveis nos locais de excitação e detecção do espectrômetro. Pelo fato de o detector e a amostra estarem próximos ocorre um aumento de 100 vezes ou mais na energia que alcança o detector. Por esse motivo, é possível que fonte mais fraca e de baixa potência sejam utilizadas sendo mais baratas e menos prejudicial à amostra (SKOOG, et al., 2002).

Em comprimentos de onda mais curtos os sistemas de energia dispersiva apresentam resolução superior em relação aos espectrômetros de cristal (SKOOG, et al., 2002).

2.3 CROMATOGRAFIA GASOSA (CG)

A separação do analito de certas interferências é uma etapa fundamental nos processos analíticos, pois os processos geralmente são seletivos e poucos são realmente específicos (SKOOG, et al., 2002).

Ainda segundo Skoog e colaboradores (2002), as cromatografias constituem importantes métodos para separação analítica e, aplicadas em todos os ramos da ciência. A nomenclatura surgiu da junção dos termos *chroma* (cor) e *graphein* (escrever). Suas aplicações cresceram expressivamente nos últimos cinquenta anos e isto se deve, principalmente, pela necessidade dos cientistas em melhorar métodos de caracterização de misturas complexas. Devido à técnica empregada neste trabalho, a abordagem deste grupo de técnicas se restringirá à cromatografia gasosa.

É um tipo comum de cromatografia usada em química orgânica que realiza a separação de compostos capazes de vaporizar sem decomposição. Muito utilizada na realização de testes de pureza de uma substância em particular ou também, para a separação de componentes diversos de uma mistura (GONÇALVES, 2001; SKOOG, et al., 2009a).

Na identificação qualitativa de um composto é preciso analisar os tempos e volumes de retenção, para obter informações quantitativas são analisadas as alturas ou áreas dos picos. Em caráter qualitativo este tipo de cromatografia é mais limitada que outros métodos, o que ocasiona a utilização de outros métodos paralelos e/ou acoplados a esta técnica, tais como espectrometria de massas, infravermelho e a ressonância magnética nuclear (SKOOG, et al., 2009a).

Tanto substâncias líquidas como as sólidas podem ser analisadas por cromatografia gasosa, desde que, estas possam ser volatilizadas transformando-as em vapor pelo aumento da temperatura.

O equipamento é constituído por uma fase estacionária (líquida ou sólida) que causa a separação da mistura por processos físicos e químicos, e por uma fase móvel (gás de arraste) que transporta o analito através da coluna de separação, levando-o até o detector separando os compostos (FIGUEIRA, 2012). Ao contrário de outros tipos de cromatografias, não ocorre interação entre a fase móvel e as moléculas no analito, a única função da fase móvel é a de transportá-lo através da coluna (SKOOG, et al., 2009a). Quando a fase móvel é um gás e a fase estacionária é um líquido retido na superfície de um sólido inerte por adsorção ou ligação química tem-se uma cromatografia do tipo gás-líquido. Já quando a fase móvel é um gás e a fase estacionária é um sólido que retém os analito por adsorção física a cromatografia é denominada gás-sólido, nesta é possível a separação de gases com baixa massa molecular (componentes do ar, sulfeto de hidrogênio, monóxido de carbono e óxido de nitrogênio) (GONÇALVES, 2001; SKOOG, et al., 2009a).

Dependendo dos componentes da amostra e suas propriedades alguns serão retidos na fase estacionária por maior período que outros, e é o tempo que um componente leva para atingir o final da coluna que indicará sua afinidade pela fase estacionária, simplificando a caracterização e identificação (FIGUEIRA, 2012).

Os sistemas de detecção desta análise para serem ideais devem apresentar as seguintes características: sensibilidade adequada (em geral na faixa de 10^{-8} a 10^{-15} g do soluto/s⁻¹), boa estabilidade e reprodutibilidade, resposta linear aos solutos que se estenda a várias ordens de grandeza, faixa de temperatura desde a ambiente até pelo menos 400 °C, tempo de resposta

curto e independente da vazão, alta confiabilidade e facilidade de uso, não deve destruir a amostra, similaridade de resposta a todos os solutos ou uma resposta altamente previsível e seletiva a um ou mais grupos de solutos (SKOOG, et al., 2009b). Os principais tipos de detectores disponíveis são: detectores de ionização em chama, de condutividade térmica, de captura de elétrons e espectrometria de massas. Este último é um dos detectores mais influentes para a cromatografia gasosa. A combinação dos dois é conhecida como cromatografia gasosa acoplada a detector de espectrometria de massas (CG-EM) (SKOOG, et al., 2009b).

2.4 NANOEMULSÕES COM ÓLEO VEGETAL

As emulsões são classificadas como sistemas termodinamicamente instáveis, pois são formadas a partir de dois líquidos imiscíveis, no caso deste trabalho, água e óleo de tucumã, em que o último está disperso no primeiro na forma de glóbulos. O sistema pode ser classificado como óleo em água (O/A) ou água em óleo (A/O) de acordo com a hidrofília ou lipofília do dispersante. Hidrofília é a propriedade que uma substância apresenta em ter afinidade pela água e a lipofília é a afinidade com óleos (PEREIRA, 2011).

Porém é possível estabilizar uma emulsão por meio da ação de agentes tensoativos. Estes agentes agem diminuindo a tensão entre as fases do sistema formando um filme ao redor dos glóbulos formados na fase dispersa, suas funções são reduzir a tensão interfacial e estabilizar o sistema evitando a instabilidade que causa a separação das fases do sistema.

O tamanho dos glóbulos é o que diferencia emulsões, microemulsões e nanoemulsões. Devido ao foco desta pesquisa, a Nanobiotecnologia, trabalhou-se com nanoemulsões que é uma dispersão fina composta por uma fase de óleo e outra fase aquosa, em escala nanométrica. Apresentam transparência e são translúcidas, devido ao tamanho de suas partículas.

Nanoemulsões são termodinamicamente instáveis e não se formam espontaneamente, por isto, normalmente são empregados dispositivos mecânicos para fornecer a energia necessária para a formação. Podem ser utilizados homogeneizadores de alta pressão e geradores de ultrassom, a vibração causada pelo ultrassom produz ondas capazes de produzir um efeito cortante, resultando em partículas de tamanho reduzido. A eficiência do processo de

dispersão está diretamente relacionada com o tempo de ultrassom em amplitudes diferentes (ASSIS et al., 2012).

Ultimamente tem aumentado em grande escala a utilização de nanoemulsões para produção de nanocosméticos (EGIPTO, 2009). As vantagens são muitas e entre elas é possível destacar: (a) o tamanho das partículas que podem atravessar as superfícies ásperas de peles ressecadas; (b) diâmetro extremamente pequeno das partículas que resulta na deposição uniforme dos componentes na pele; (c) não exige grandes quantidades de tensoativos como é o caso das microemulsões, para nanoemulsões utiliza-se a faixa de 5 a 10% (THADROS et al., 2004).

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os frutos de Tucumã foram coletados em uma propriedade rural situada às margens da BR 317, km 157, no município de Capixaba, Estado do Acre, Figuras 12 e 13. Todos os frutos foram transportados para o Laboratório de Bioprospecção e Síntese de Nanocompostos da Universidade Federal do Acre (UFAC), lavados, sanitizados e despulpados com a utilização de facas de aço inoxidável. A polpa foi posta em refrigeração para proteção contra a ação de microorganismos e reações bioquímicas.



Figura 12. Imagem de satélite fornecida pelo *software Google Earth*, destacando a área de coleta dos frutos de Tucumã na região do Acre.



Figura 13. Coleta dos frutos de Tucumã.

3.1 EXTRAÇÃO DO ÓLEO

A polpa foi submetida à secagem em estufa a 50 °C por um período de 24 h, esta temperatura é adequada para não acarretar na degradação do óleo e seus constituintes, Figura 14.



Figura 14. Polpa do fruto do Tucumã durante a secagem.

A polpa já seca foi triturada em liquidificador doméstico e submetida à extração por solvente (hexano) em ebulição, Figura 15.



Figura 15. Polpa do fruto do Tucumã seca e triturada.

Cerca de 5 g da polpa seca foi colocada em cartucho de celulose e levada ao extrator de óleos e graxas soxhlet, Figura 16.



Figura 16. Extrator de óleos e graxas soxhlet.

Em seguida, adicionou-se hexano no aparelho entrando em contato com a polpa que já estava no cartucho de celulose. Prosseguiu-se com a lavagem do material para a extração do óleo que continha, realizou-se e recuperação do solvente empregado na extração e, posteriormente o recipiente que continha uma quantidade pequena de solvente foi levada à estufa para evaporação destes resíduos finais, Figura 17.



Figura 17. Óleo da polpa de Tucumã após recuperação do solvente.

Após a extração do óleo de Tucumã o resíduo obtido (farinha) apresentou alteração em sua coloração, evidenciando que seu conteúdo lipídico havia sido reduzido, Figura 18.

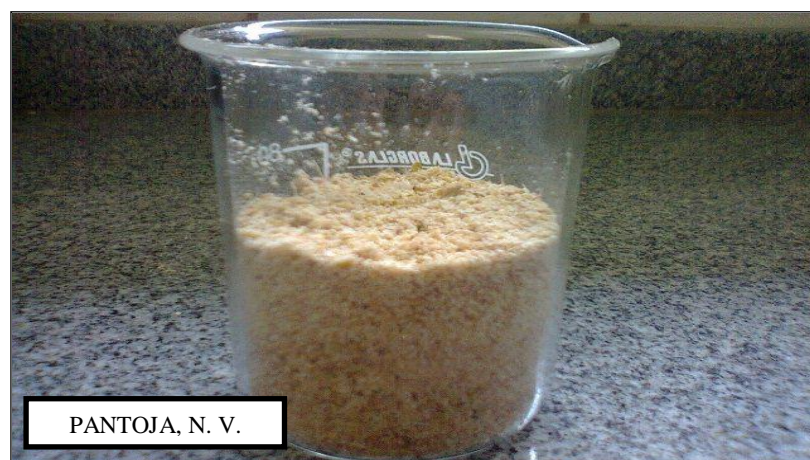


Figura 18. Farinha de polpa de tucumã após extração de óleo.

O óleo da polpa de Tucumã obtido foi analisado por análise físico-químico quanto aos índices de acidez, peróxido, iodo, saponificação, densidade, refração e viscosidade no Laboratório de Físico-química situado na Unidade de Tecnologia de Alimentos (UTAL) da UFAC, segundo métodos do Instituto Adolfo Lutz (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985).

3.2 DETERMINAÇÕES ANALÍTICAS

Para determinar as características e componentes presentes no óleo estudado foram realizadas análises físicas, químicas, espectroscópicas e de separação. Os valores obtidos foram avaliados e comparados com os de outros trabalhos apresentados na literatura científica.

3.2.1 Caracterização físico-química

O óleo extraído da polpa foi submetido à caracterização físico-química por meio das seguintes análises.

3.2.1.1 Índice de acidez

Pesou-se 2 g do óleo em um *erlenmeyer* de 125 mL. Foram adicionados 25 mL de solução éter-álcool (2:1) neutra. Adicionaram-se duas gotas de indicador fenolftaleína. Titulação com solução de hidróxido de sódio 0,01 M até o surgimento da coloração rósea persistente (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985). O procedimento foi realizado em triplicada.

Cálculo:

$$I.A. = \frac{v \times f \times 5,61}{p} \quad (2)$$

Onde,

v = nº de mL de solução de hidróxido de sódio 0,01 M gasto na titulação;

f = fator da solução de hidróxido de sódio;

p = nº de g da amostra.

3.2.1.2 Índice de peróxido

Pesou-se 5 g do óleo em um *erlenmeyer* de 125 mL. Adicionou-se 30 mL da solução ácido acético – clorofórmio (3:2) e agitou-se até dissolução da amostra. Adicionou-se 0,5 mL da solução saturada de iodeto de potássio (KI) e deixou-se em repouso ao abrigo da luz por um minuto. Acrescentou-se 30 mL de água destilada e titulou-se com solução de tiosulfato de sódio 0,01 N, com agitação constante. Continuou-se a titulação até que a coloração amarela tivesse quase desaparecido. Adicionou-se 0,5 mL de solução indicadora de amido (1%) e continuou-se a titulação até o completo desaparecimento da coloração azul. Um prova em branco foi realizada concomitantemente da mesma maneira descrita acima, porém sem a adição de 2 g do óleo.

Cálculo:

$$I.P. = \frac{(A - B) \times N \times f \times 1000}{p} \quad (3)$$

Onde:

A = nº de mL da solução de tiosulfato de sódio 0,01 N gasto na titulação da amostra;

B = nº de mL da solução de tiosulfato de sódio 0,01 N gasto na titulação do branco;

N = normalidade da solução de tiosulfato de sódio;

f = fator da solução de tiosulfato de sódio;

p = nº de g da amostra.

3.2.1.3 Índice de iodo

Foram pesadas 0,25 g de óleo em *erlenmeyer* de 250 mL, usando 10 mL de tetracloreto de carbono (CCl_4). Adicionou-se 20 mL de solução de Wijs. Agitou-se cuidadosamente por rotação. O sistema foi mantido em repouso por 30 minutos, ao abrigo da luz e à temperatura de aproximadamente 25 °C. Foram adicionados 10 mL da solução de KI a 15% e 100 mL de água recentemente fervida e fria. Titulou-se com tiosulfato de sódio 0,01 N, adicionando-o lentamente e com constante agitação, até o surgimento de uma fraca coloração amarela. Então, foram adicionados de 1 a 2 mL de solução indicadora de amido a 1% e continuou-se a titulação que a cor azul desaparecesse. Foi colocada uma rolha no frasco e este agitado fortemente. Uma prova em branco foi realizada simultaneamente.

Cálculo:

$$I.I. = \frac{(B - A) \times f \times 1,27}{p} \quad (4)$$

Onde:

B = nº de mL de solução de tiosulfato de sódio 0,01 N gasto na titulação do branco;

A = nº de mL de solução de tiosulfato de sódio 0,01 N gasto na titulação da amostra;

f = fator da solução de tiosulfato de sódio 0,01 N;

p = nº de g da amostra.

3.2.1.4 Índice de saponificação

Utilizou-se 2 g do óleo pesados em balança analítica em um *erlenmeyer* de 250 mL. Foram adicionados 20 mL de solução alcoólica de hidróxido de potássio a 4%. Ao *erlenmeyer* foi adaptado um sistema de refluxo. Foi aquecido até atingir uma ebulição branda, por aproximadamente 30 minutos. Após o resfriamento foram adicionadas 2 gotas do indicador de

fenolftaleína, posteriormente uma titulação com ácido clorídrico 0,5 N até desaparecimento da coloração rósea. Uma prova em branco foi realizada concomitantemente da mesma maneira descrita acima, porém sem a adição de 2 g do óleo. A diferença entre os números de mL de ácido clorídrico gastos na titulação da amostra e na titulação da prova em branco indicou a quantidade de hidróxido de potássio gasto na saponificação (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985). O procedimento foi realizado em triplicata.

Cálculo:

$$I.S. = \frac{v \times f \times 28}{p} \quad (5)$$

Onde:

v = diferença entre os números de mL do ácido clorídrico 0,5 N gastos nas duas titulações;

f = fator do ácido clorídrico 0,5 N;

p = nº de g da amostra.

3.2.1.5 Densidade

Determinou-se a densidade do óleo utilizando um picnômetro de 5 mL. O volume dos picnômetros foi preenchido com o óleo e em seguida o sistema foi pesado. Usando a relação massa e volume foi obtido um valor para a densidade do óleo (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985). O experimento foi realizado em triplicata.

3.2.1.6 Refração

Esta determinação foi realizada a uma temperatura de 40 °C. Ajustou-se o refratômetro de Abbé com água destilada. Fez-se circular uma corrente de água a 40 °C através do aparelho. Estabilizou-se a temperatura, posteriormente adicionou-se 2 gotas do óleo entre os prismas e depois estes foram fechados. Fez-se a focalização. A leitura direta na escala

forneceu o índice de refração absoluto da amostra nas condições experimentais adotadas (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985).

3.2.1.7 Viscosidade

Para esta determinação foi utilizado um viscosímetro rotacional. A viscosidade foi medida pela velocidade angular de uma parte móvel separada por uma parte fixa (a parede de um béquer) pelo óleo. A parte móvel do equipamento apresentava o formato de palhetas.

3.2.2 Caracterização espectroscópica

As medidas espectroscópicas foram realizadas através de parcerias com diferentes instituições do país em que o Grupo de Pesquisa em Nanociência, Nanotecnologia e Nanobiotecnologia (N&N&Nb) e o INCT em Nanobiotecnologia encontram-se desenvolvendo projetos em conjunto. Entre elas, a Fundação de Tecnologia do Acre – FUNTAC, Universidade de Brasília – UnB, Universidade Federal de Uberlândia – UFU, Universidade Federal do Pará – UFPA, Universidade Federal de Rondônia – UNIR, Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN, Departamento de Polícia Civil do Estado do Acre e Superintendência da Polícia Federal do Estado do Acre.

3.2.2.1 Espectroscopia de Ultravioleta Visível (UV-vis)

Foram realizadas oito diluições do óleo de polpa de Tucumã utilizando hexano PA como solvente. As concentrações obtidas foram de 10%, 8%, 6%, 4%, 2%, 1%, 0,5% e 0,25% de óleo, Figura 19. Cubetas de quartzo de 1 cm de caminho óptico e volume igual a 5 mL foram usadas nesta determinação, e, as leituras realizadas em um espectrofotômetro pontual, Figura 20. Primeiramente foi executada uma medida utilizando somente hexano e esta medida

serviu como referência. Em seguida, outra leitura foi realizada utilizando somente o óleo de polpa de tucumã, equivalendo a 100% de amostra. Posteriormente, foram feitas as leituras das amostras diluídas citadas acima, o equipamento estava aferido no comprimento de onda de 546 nm. Após isto, realizou-se o espectro de absorbância para três concentrações que mais se aproximaram da curva padrão, foram empregados diferentes comprimentos de onda variando entre 400 a 500 nm.

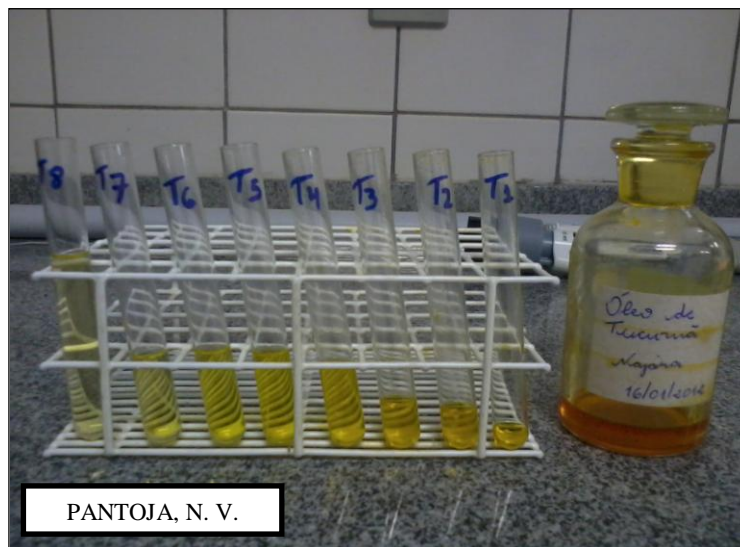


Figura 19. Amostras em diferentes concentrações de óleo de Tucumã usadas na curva de calibração.

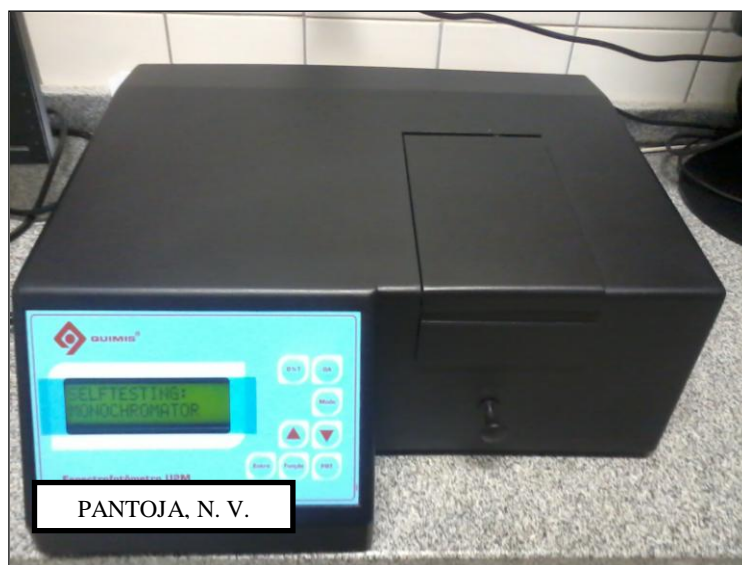


Figura 20. Espectrofotômetro de Ultravioleta-Visível utilizado nas medidas do óleo de tucumã.

Nesta determinação foi utilizado um espectrômetro com fonte de luz uma lâmpada halógena. A voltagem e a corrente foram mantidas sob controle com o acoplamento a uma fonte. Em seguida, a amostra foi colocada em superfície situada em frente à lâmpada e a esta foi acoplada fibra óptica de 50 μm de diâmetro, acoplada ao espectrômetro que já estava conectado ao computador que fornece os espectros.

3.2.2.2 Espectroscopia de infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR)

As medidas de infravermelho foram realizadas no laboratório de análises químicas da Superintendência da Polícia Federal do Estado do Acre, em equipamento (Figura 21) na faixa do infravermelho médio entre 4000 cm^{-1} e 400 cm^{-1} .

Foi realizada uma medida com o prisma de cristal vazio para servir como referência. Esta medida foi denominada *background*. Posteriormente, a amostra do óleo foi colocada preenchendo completamente o prisma de cristal e realizada nova medida. Determinou-se a absorbância da radiação no infravermelho pela comparação da radiação que chega até o detector após atravessar o prisma sem e com a amostra. Foi necessário realizar a medida de referência para impedir que flutuações da energia elétrica da saída da fonte afetassem os resultados finais, de modo que tanto a amostra quanto a referência são comprometidas da mesma maneira.



Figura 21. FTIR espectrofotômetro usado nas medidas do óleo de tucumã.

3.2.2.3 Luminescência

Para o bombeamento incidente na amostra foram utilizados como fonte luminosa *laser* de diodo no comprimento de onda de 405 nm. A amostra foi incidida na direção transversal e, focalizou-se a emissão de maneira que o feixe de luminescência incidisse na fibra óptica que fora acoplada ao equipamento, desta maneira emitindo para o computador o sinal obtido.

3.2.2.4 Lente térmica (LT)

Um *laser* de Argônio foi utilizado como feixe de excitação, operou no comprimento de onda de 457 nm. Como laser de prova para todas as amostras foi utilizado HeNe operando em 632 nm.

O feixe de excitação foi focalizado por duas lentes convergentes, denominadas L1 e L2, para que ocorresse a colimação, e entre as lentes foi posicionado o chopper. O feixe de *laser* passou por uma terceira lente convergente (L3) com $f = 20$ cm, antes de incidir na amostra. Esta lente também realizou um fino ajuste das direções verticais e horizontais, permitindo que o *laser* de excitação pudesse sobrepor o de prova, tornando máximo o sinal da lente térmica. A amostra então foi posicionada na cintura do feixe de excitação em que a intensidade era máxima e ligeiramente deslocada em relação ao feixe de prova.

Através do *chopper* foi controlado o tempo de exposição da amostra ao feixe de excitação. A frequência aproximada do *chopper* foi de 1.7 Hz. Após passar pela amostra o feixe de excitação foi captado por um detector D1, que atuou como mecanismo de disparo para iniciar a aquisição dos dados a partir da formação inicial da lente térmica. O feixe do *laser* de prova foi focalizado através de uma lente convergente L4 de maior foco, $f = 30$ cm, posicionada de forma que os feixes pudessem se encontrar na forma descasada. O alinhamento dos feixes de excitação e de prova foi feito orientando que estes se cruzassem em pequeno ângulo de aproximadamente 2° . Antes de chegar ao detector o feixe passou por uma íris, que garantiu que apenas o centro do feixe incidisse no mesmo. O sinal de lente térmica

fornecido pelo feixe de prova foi captado por meio de uma placa de aquisição de dados em um computador para realização das análises dos dados.

O óleo de polpa de Tucumã foi inserido dentro da cubeta com auxílio de uma agulha e em seguida, a cubeta foi vedada com cola quente para evitar que escorresse pela extremidade.

3.2.2.5 Raios X por energia dispersiva (EDX)

Esta medida foi realizada no laboratório de análises e perícia química do Departamento de Polícia Civil do Estado do Acre.

O óleo não recebeu tratamento prévio para realização da análise. Uma gota foi adicionada em filme reflexivo de 6 μm de espessura, previamente posicionado no fundo de uma cela de polietileno com 23 mm de diâmetro externo e 23 mm de altura, apresentado nas figuras 22a e 22b. Em seguida o conjunto foi posto no espectrômetro (apresentado na figura 23) e posicionado em seu centro com auxílio do *software* instalado no computador acoplado ao equipamento, como mostram as figuras 22c e 22d. O equipamento teve sua calibração e refrigeração efetuada com nitrogênio líquido, operando nas condições descritas por Kemerich et al. (2012). Os valores de alguns metais pesados presentes na amostra foram quantificados.

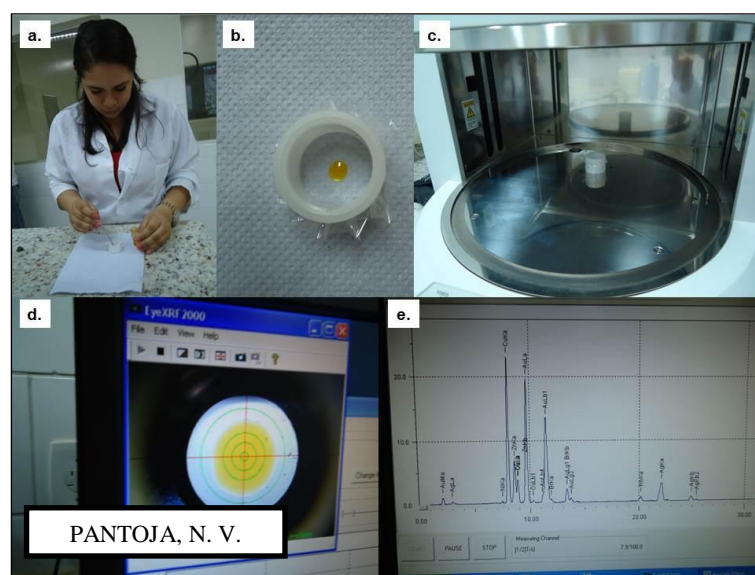


Figura 22. Medida de espectroscopia de raios X: a. Adição; b. Amostra em filme plástico; c. Posicionamento no centro do equipamento; d. Tela do *software* auxiliando no posicionamento da amostra; e. Espectro gerado.



Figura 23. Espectrofotômetro de fluorescência de raios X por energia dispersiva (EDX).

3.3 CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADO AO ESPECTRÔMETRO DE MASSAS (CG-EM)

Os ácidos foram analisados por cromatografia gasosa acoplada a um espectrômetro de massas (CG-EM), Figura 24, na Universidade Federal do Pará. Equipado com uma coluna capilar das seguintes dimensões: 30 m x 0,25 mm x 0,25 μm ; e um espectrômetro de massa com detector de impacto de elétrons de 70 eV e biblioteca para referências. Um volume de 1 μL de amostra foi injetado como modo split com razão de 1:20. Programou-se a temperatura do forno de 50 °C, 20 °C/min. até 230 °C por 20 min. Utilizou-se hélio como gás de arraste, na vazão de 96 mL/min. A caracterização dos ácidos graxos presentes foi realizada por comparação do espectro de massa com os padrões existentes na biblioteca.



Figura 24. Cromatógrafo gasoso acoplado a espectrômetro de massas.

3.4 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE POR DPPH

O perfil de atividade antioxidante do óleo de polpa de Tucumã foi realizado baseando-se no método de capacidade de sequestro do radical 1,1-difenil-2-picrilidrazil (DPPH) descrito por Brand-Williams e Berset (1995). Além de utilizar o óleo de polpa de Tucumã, nesta determinação também foi empregado o óleo de polpa de Buriti, com o intuito de realizar comparativo entre as atividades destes dois analitos.

Realizou-se uma reação com o DPPH em solução de etanol. Foram usados 250 μL dos óleos e solubilizados em etanol, atingindo concentração final igual a 25 mg mL^{-1} . Os padrões de referência empregados foram os extratos de *Ginkgo biloba*® e Rutina.

As soluções iniciais receberam diluições em etanol apresentando concentrações finais de 2, 8 e 16 mg mL^{-1} . Aliquota da 1 mL de solução de DPPH (1 mM) foi adicionada à 2,5 mL das soluções com diferentes concentrações de amostra, em seguida, os sistemas permaneceram sob reação à temperatura ambiente. Quando transcorridos 30 minutos, mediram-se os valores de absorvância (518 nm) em espectrofotômetro de UV-vis. Os valores foram convertidos em percentuais de atividade antioxidante (AA) por meio da equação descrita abaixo, proposta por Mensor et al. (2001).

$$AA(\%) = 100 - \frac{[(Abs_{amostra} - Abs_{branco}) \times 100]}{Abs_{controle}} \quad (6)$$

Como branco foram utilizados, 1,0 mL de etanol juntamente com 2,5 mL das soluções das amostras. 1,0 mL de solução de DPPH (0,3 mM) e 2,5 mL de etanol foram usados como controle negativo. *Ginkgo biloba* e Rutina foram os controles positivos.

Calculou-se por regressão linear de pontos os valores de CE₅₀ (concentração efetiva 50%), determinada como sendo a concentração suficiente para obter 50% de um efeito máximo estimado em 100%, onde o eixo das abscissas representou a concentração dos óleos de polpas de Tucumã e Buriti avaliados enquanto que o eixo das ordenadas representou a percentagem média da atividade antioxidante. Todo o procedimento foi realizado em triplicata.

3.5 PREPARO DE NANOEMULSÃO

Foram realizados ensaios para o preparo de nanoemulsão do tipo O/A, utilizando-se óleo de polpa de tucumã, copolímero poli(L-ácido láctico-co-ácido glicólico), PLGA, tensoativo álcool polivinílico, PVA e solvente orgânico, diclorometano.

Dois sistemas distintos foram preparados inicialmente, o primeiro, denominado fase aquosa e o segundo, denominado fase orgânica. Para a fase aquosa preparou-se uma solução de PVA a 3%. E, para a fase orgânica solubilizou-se 100 mg do polímero PLGA em 10 mL de diclorometano e em seguida foram adicionados 300 μ L de óleo de polpa de Tucumã. Posteriormente, com agitação a fase orgânica foi vertida na fase aquosa. Adicionou-se também, neste instante, 300 μ L de etanol para auxiliar na formação de partículas em escala nanométrica.

Prossseguiu-se com agitação lenta do sistema por período de 4 horas, visando total evaporação do solvente utilizado, Figura 25. Após este período o sistema recebeu 3 lavagens por centrifugação a 3500 rpm por 15 minutos. Em seguida foram realizadas análises visuais do material obtido.



Figura 25. Sistema sob agitação durante o preparo de nanoemulsão com óleo de polpa de Tucumã.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste trabalho foi utilizado como objeto de estudo o óleo da polpa de Tucumã, extraído por sistema de refluxo com hexano. Para caracterização dos componentes e de seus comportamentos mediante condições específicas foram empregadas determinações físico-químicas e espectroscópicas.

Concomitantemente, empregou-se a cromatografia gasosa como metodologia de separação para os componentes graxos. A seguir, são discutidos os resultados obtidos nas determinações.

4.1 DETERMINAÇÕES ANALÍTICAS

Por meio das determinações descritas nas seguintes subseções caracterizou-se o óleo de polpa de Tucumã quanto seus parâmetros físico-químicos e espectroscópicos.

4.1.1 Caracterização físico-química

Parâmetros físico-químicos são diretamente influenciáveis pelo tipo de solo, clima e quantidade de água da região. Alteram-se a partir dos tratamentos dados ao fruto e/ou ao óleo já extraído. Com o intuito de minimizar as influências do ambiente indesejáveis para a caracterização dos componentes do óleo da polpa de Tucumã, este foi armazenado em refrigerador a uma temperatura de ± 8 °C.

Na Tabela 4 são mostrados os resultados obtidos nas análises dos índices de acidez, peróxido, iodo, saponificação, densidade, refração e viscosidade, realizadas nas amostras de óleo de polpa de Tucumã.

Tabela 4. Caracterização físico-química do óleo da polpa de Tucumã.

Índices	Óleo da polpa	ANVISA
Acidez (mgKOH/g)	2,60	≤ 4,00
Peróxido (meq/kg)	3,95	≤ 15,00
Iodo (gI/100g)	73,500	75 - 90
Saponificação (mgKOH/g)	115,600	≤ 250,00
Densidade a 24 °C (g/mL)	1,320	*
Refração a 40 °C	1,465	*
Viscosidade (m.Pa.s)	58,000	*

*A ANVISA não indica padrões de referência para estes índices.

Em comparação com os valores preconizados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) em que são mencionados valores máximos para acidez de 4,0 mgKOH/g e 15 meq/kg para peróxido, constatou-se que o óleo de Tucumã encontrava-se dentro dos padrões estabelecidos pela ANVISA para alimentação humana (ANVISA, 2005), apresentando valores de índices de acidez e peróxido iguais a 2,6 mgKOH/g e 3,95 meq/kg, respectivamente. Em termos de teor de acidez em ácido oleico, obteve-se um valor de 1,30%, destacando que de acordo com a padronização, este valor não deve ser superior a 2,0%.

O índice de peróxido foi determinado pela detecção do cátion de uma base, necessário na neutralização de compostos oxidados. Constitui a forma de determinação da rancidez comuns em óleos e gorduras, os odores da referida rancidez indicam que haja a probabilidade de o processo oxidativos estar em seu estágio final. Constam como influenciadores do índice de peróxido a temperatura, ação de enzimas, luz e íons metálicos.

A medida do índice de saponificação foi realizada para avaliar o tamanho da cadeia dos ácidos graxos que compunham a amostra, sendo que estes são inversamente proporcionais. Obteve-se valor igual a 115,60 mgKOH/g, o valor máximo estipulado pela ANVISA é de 250,00 mgKOH/g. Constatou-se que o óleo de polpa de Tucumã apresentava-se dentro dos padrões.

Em relação ao índice de iodo, o valor obtido foi igual a 73,50 gI/100g, valor um pouco abaixo do valor aceitável pela agência de vigilância (75 - 90 gI/100g). A medição deste índice por muitas vezes é empregada a fim de se identificar grosseiras adulterações em óleos de diversos tipos, isto porque, mede o grau de insaturação dos ácidos graxos presentes na amostra avaliada. Os valores obtidos indicam que o óleo de polpa de Tucumã não sofreu oxidação térmica de acordo com a análise do espectro de ultravioleta visível alcançado.

Nos triglicerídeos quanto menor for a densidade maior será o grau de insaturação, o valor de densidade obtido à 40 °C foi igual a 1,320 g/mL . Encontrar valores relativamente altos para a viscosidade é o esperado para óleos, devido às atrações intermoleculares das grandes cadeias de ácidos graxos que compõem os triglicerídeos. A viscosidade dos óleos, geralmente, sofre um ligeiro decaimento com o aumento da insaturação. Quando óleos contêm ácidos graxos de baixo peso molecular são menos viscosos, contudo, o aumento da temperatura também interfere na viscosidade.

O índice de refração apresentado pelo óleo foi equivalente a 1,465, estando de acordo com o padrão estabelecido. Esta característica é peculiar para cada tipo de óleo e relaciona-se com as ligações e seus graus de insaturação, compostos de oxidação e tratamentos térmicos. O índice é diretamente proporcional à quantidade de duplas ligações presentes, conjugações e tamanho da cadeia.

4.1.2 Caracterização espectroscópica

4.1.2.1 Espectroscopia de ultravioleta visível (UV-vis)

Foi realizada a curva padrão, Gráfico 1, que é a relação gráfica que compreende os valores de absorvância e os valores de concentração. Pela análise do gráfico percebeu-se a linearidade da reação e calculou-se um fator de conversão dos valores de absorvância em concentração. A curva foi realizada no comprimento de onda (λ) de 540 nm. Ao ilustrar dados no gráfico e traçar a curva padrão, obteve-se $R^2 = 0,9775$, e como se pode perceber bem próximo de 1, considerado como valor ideal para R^2 .

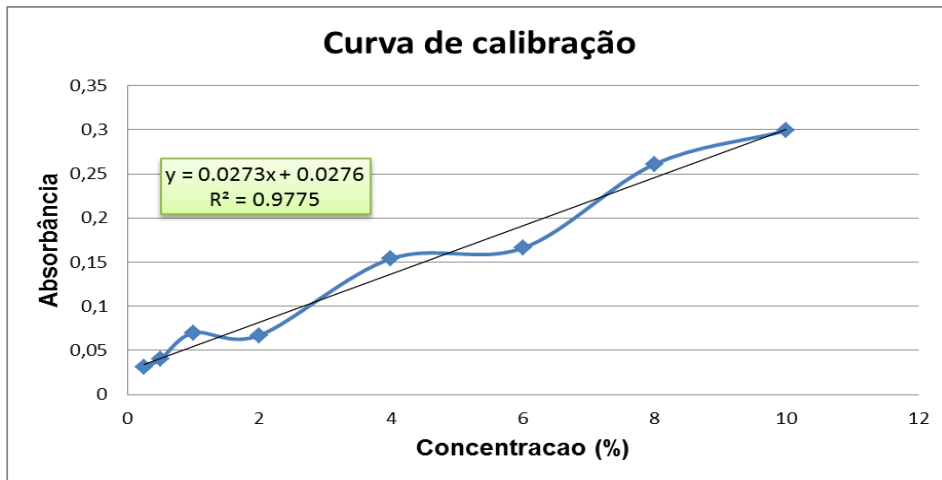


Gráfico 1. Curva de calibração do óleo de polpa de Tucumã no ultravioleta-visível.

Com a análise do comportamento das diluições distintas percebeu-se que as concentrações de 0,25%, 0,5% e 10% de óleo de Tucumã em hexano, possuíam melhor desempenho em relação à curva de calibração realizada no λ igual a 546 nm. Tendo sido conhecidas as concentrações mais adequadas, prosseguiu-se com medições de valores de absorbância em comprimentos de onda diversos, buscando avaliar as características ópticas na região ultravioleta.

Primeiramente utilizou-se a amostra de concentração igual a 0,25% de óleo, realizando medidas de absorbância com λ inicial de 400 nm, e medidas subsequentes a cada aumento de 5 nm, Gráfico 2.

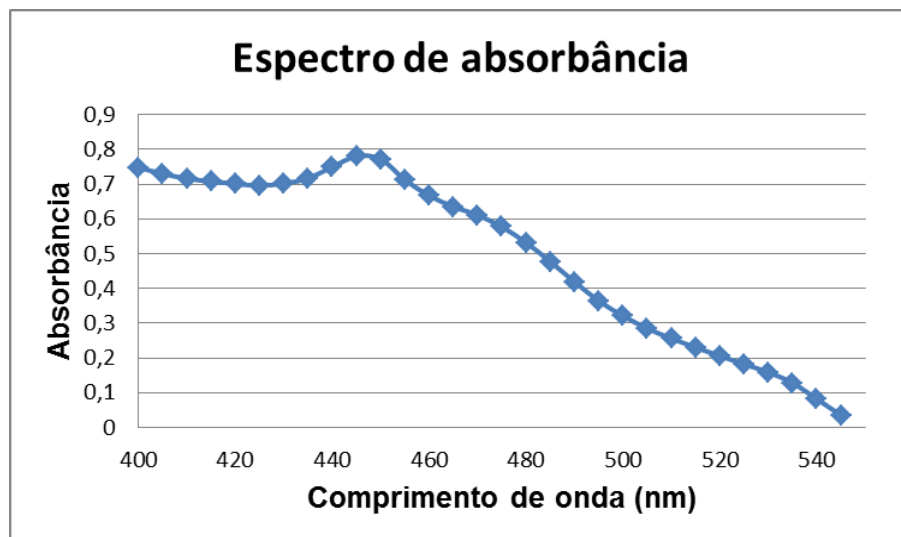


Gráfico 2. Espectro de absorbância para concentração de 0,25% de óleo.

Em seguida, foi utilizada para análise a amostra de concentração igual a 0,5% de óleo no λ inicial de 400 nm e também com medidas subsequentes. Os valores obtidos foram esboçados no Gráfico 3.

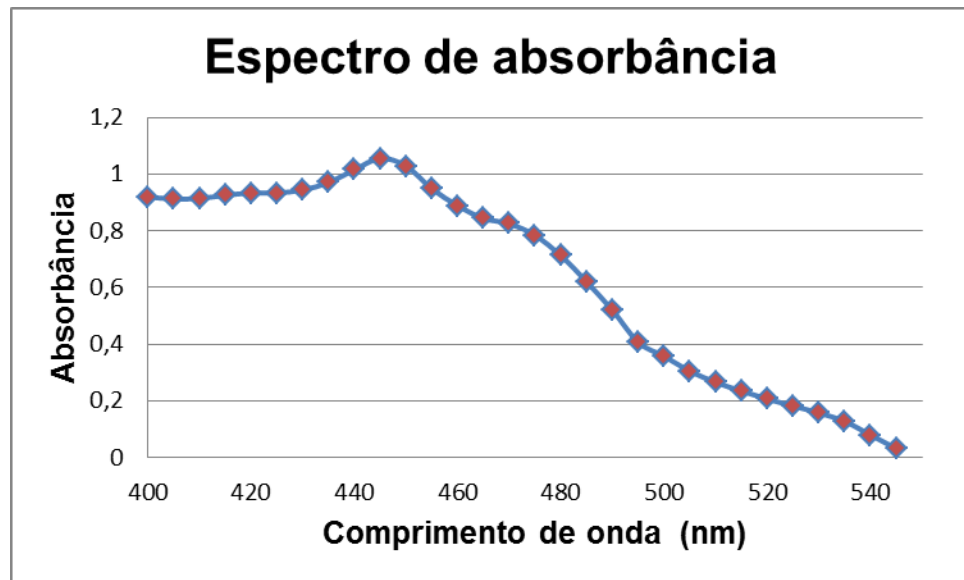


Gráfico 3. Espectro de absorbância para concentração de 0,5% de óleo.

Para ambas as concentrações, a região em que foi verificada maior absorção no espectro de UV-vis é referente ao λ igual a 445 nm, e conforme literatura é referente ao β -caroteno.

No espectro de absorbância do óleo de polpa de Tucumã, Gráfico 4, constataram-se as bandas características do ácido oleico, em torno de 350 nm, do ácido palmítico, em torno de 375 nm, e do β -caroteno, entre 400 e 540 nm. Neste espectro três picos de absorção foram relacionados ao β -caroteno resultantes da soma das contribuições das absorções de clorofila e β -caroteno (472, 484 e 504 nm).

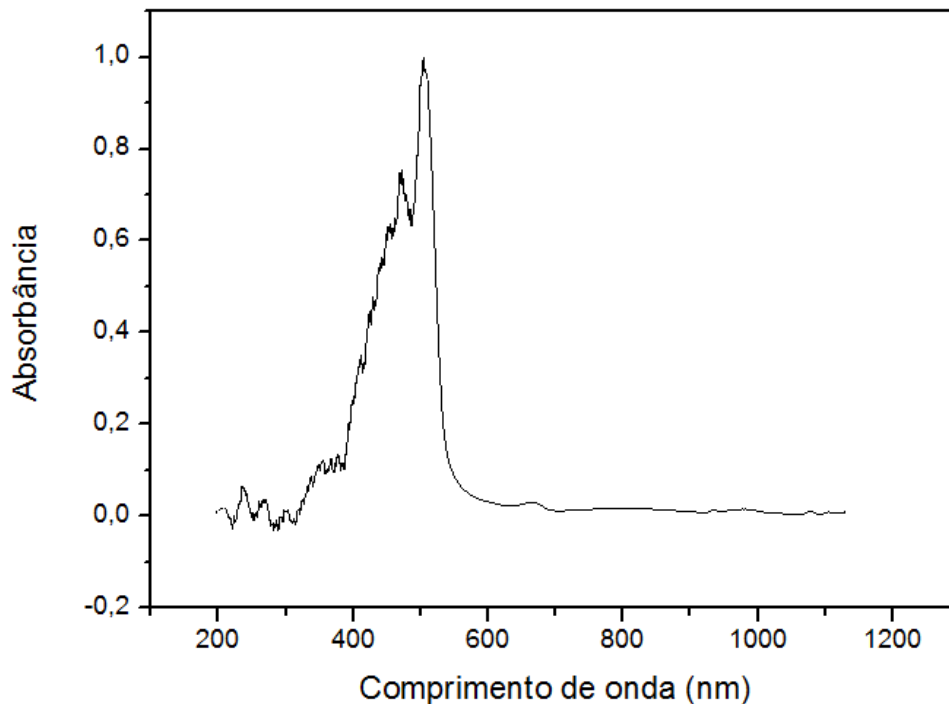


Gráfico 4. Espectro de absorbância do óleo de polpa de Tucumã.

Quando adulterações ou modificações por oxidação térmica acontecem em óleos vegetais, ocorre um aumento na intensidade e modificação na posição da banda de absorção para comprimentos de onda maiores, este efeito é denominado deslocamento batocrômico. Contudo, este efeito não foi evidenciado na análise das amostras estudadas, tendo em vista que, a intensidade de absorção se mostrou baixa. Constatou-se, mais uma vez, que o óleo de polpa de Tucumã analisado apresentava boa qualidade, confirmando com o que já era esperado após exibir baixo índice de iodo durante as análises físico-químicas.

4.1.2.2 Espectroscopia de infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR)

Na espectroscopia no infravermelho determinou-se a absorbância desta radiação através da comparação da radiação que alcançou o detector depois de ter atravessado o prisma de cristal sem e com a presença da amostra de óleo, com auxílio de *software* previamente instalado no computador acoplado ao equipamento.

Realizou-se medida de referência (*background*) para prevenir alterações causadas por flutuações de energia elétrica da saída da fonte. Apresenta-se no Gráfico 5 o espectro de infravermelho com transformada de Fourier do óleo de polpa de Tucumã no intervalo de 350-4500 cm^{-1} e para efeito de aproximação da imagem para melhor avaliação, tem-se espectro no intervalo de 500-2000 cm^{-1} , Gráfico 6.

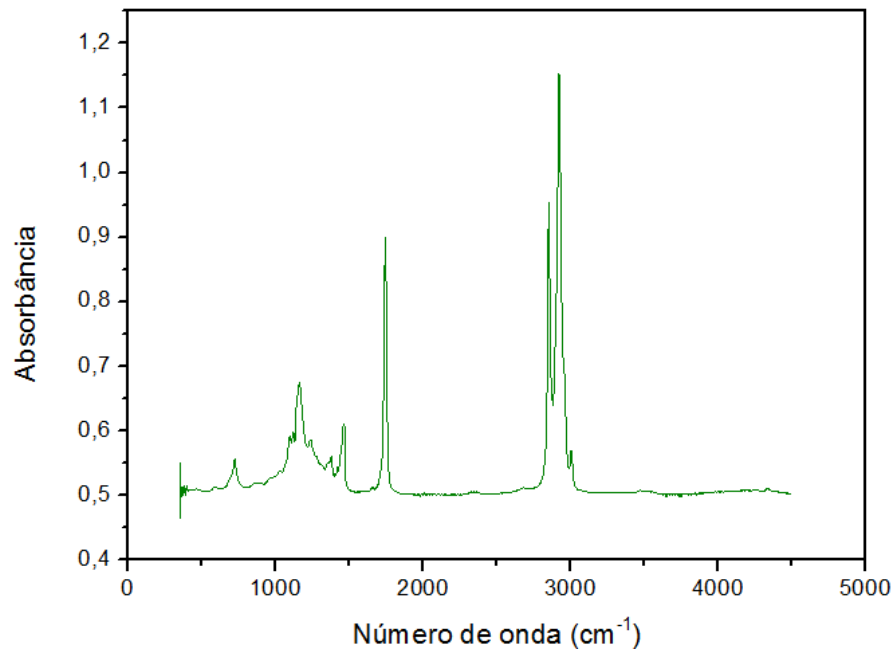


Gráfico 5. Espectro de absorção no infravermelho na região de 350-4500 cm^{-1} para óleo de polpa de Tucumã.

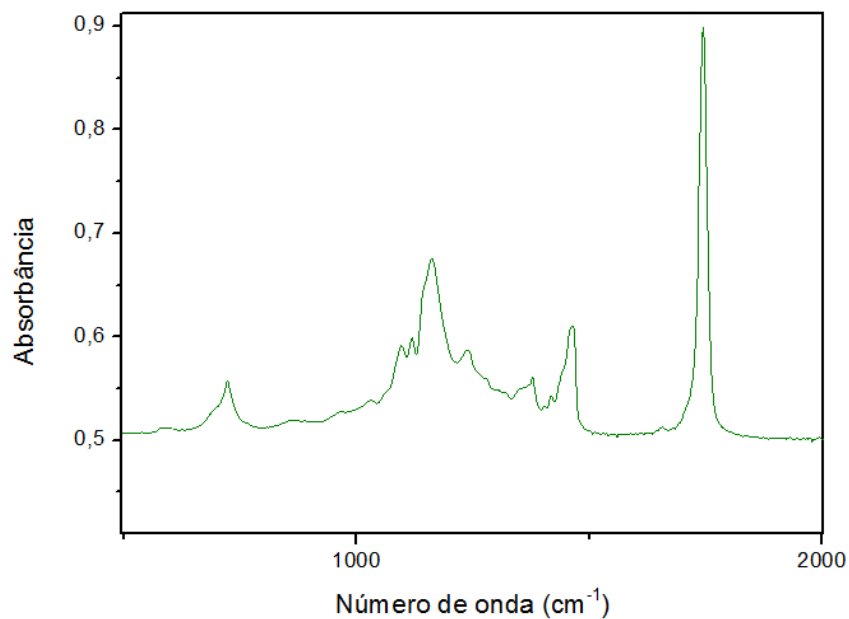


Gráfico 6. Espectro de absorção no infravermelho na região de 500-2000 cm^{-1} para óleo de polpa de Tucumã.

No Gráfico 5 é observada vibração próxima a 3004 cm^{-1} referente ao estiramento $=\text{CH}$, também presente no espectro para ácidos oleico, há também duas vibrações em torno de 2924 e 2876 cm^{-1} referentes ao estiramento C-H dos grupos metil e presentes em espectros de ácidos graxos e triacilgliceróis e, uma vibração em 2955 cm^{-1} indicativa do ácido esteárico. Vibrações atenuadas em 2922 e 2854 cm^{-1} expressam, respectivamente, as vibrações dos tipos estiramento assimétrico e simétrico do grupo CH_2 .

A seguinte banda foi evidenciada no número de onda de 1743 cm^{-1} sugerindo a ocorrência da função éster. De maneira semelhante se comporta uma substância denominada trioleína, que se trata de um triglicerídeo de ácido oleico, sugerindo que esta substância influi na composição química da amostra. A confirmação da presença de um triglicerídeo de ácido oleico no óleo de polpa de Tucumã corrobora na afirmação de que este é um óleo benéfico à saúde humana, contribuindo para a prevenção de doenças cardiovasculares por meio da redução das taxas de triglicerídeos e aumento das quantidades de colesterol bom, evidenciando a possibilidade de seu uso em fitoterápicos.

Na altura do número de onda de 1462 cm^{-1} foi visualizada a vibração do tipo de deformação do CH_2 , presente nos espectros de ácidos graxos. Uma banda característica do ácido palmítico é observada em 960 cm^{-1} , tal banda é conferida à vibração C-C fora do plano de vibração e que também pode ser observada em avaliações de espectros de outros tipos de óleos vegetais. Finalizou-se a análise do espectro com a avaliação da banda revelada em 722 cm^{-1} alusiva ao agrupamento CH_2 e que se destaca como a banda dos ácidos graxos e triglicerídeos.

4.1.2.3 Luminescência

Para as medidas de luminescência realizadas com o óleo da polpa de tucumã foram obtidos dois picos de emissão no λ de 405 nm . O primeiro pico originou-se pela soma dos reforços de β -caroteno, e a frequência variou de 558 a 630 nm , enquanto que o segundo pico pode ser indicativo da presença de clorofila na amostra estudada no λ de 677 nm . Os resultados obtidos foram comparados com aqueles obtidos por Pereira (2008) quanto aplicou metodologia equivalente em óleo de buriti e constatou-se relação entre os resultados deste escritor. No Gráfico 7 é apresentado o espectro referente.

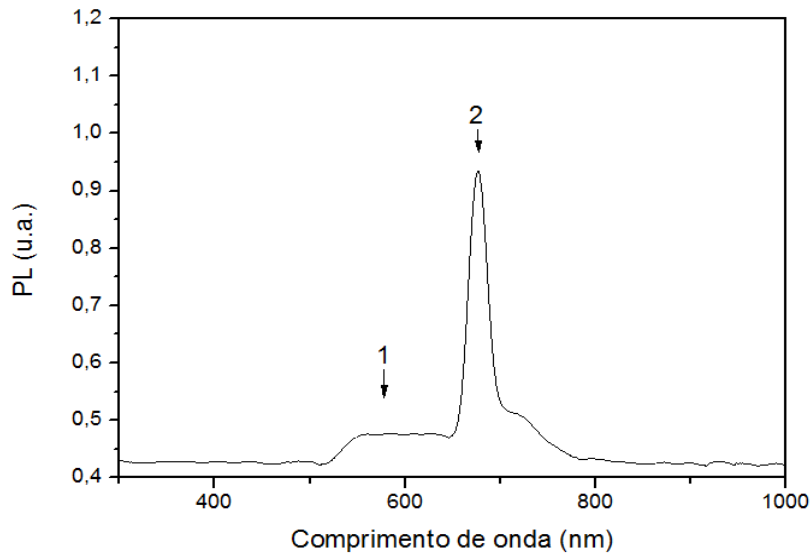


Gráfico 7. Espectro de emissão de óleo de polpa de Tucumã.

4.1.2.4 Lente Térmica (LT)

Foram obtidos valores de cintura do feixe para excitação a partir de metodologia aplicada para medidas de lente térmica, Gráfico 8. O perfil do diâmetro do feixe do *laser* de argônio em 457 nm no eixo *z* e os parâmetros que foram utilizados para obtenção de medidas via lente térmica estão apresentados no gráfico 9. Para os feixes de excitação e de prova os valores obtidos para o comprimento confocal foram: 5,11 e 3,48; e 86,2 e 83,6 para os da cintura do feixe

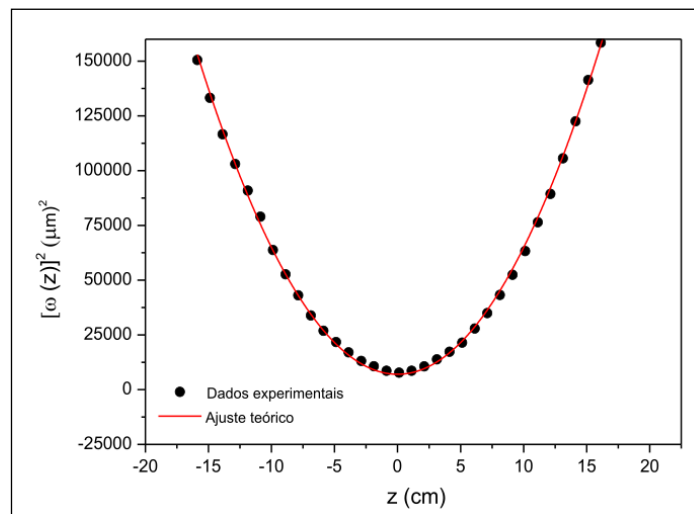


Gráfico 8. Desempenho da cintura do feixe de prova ao longo do eixo *z* e parâmetros necessários para medidas de lente térmica.

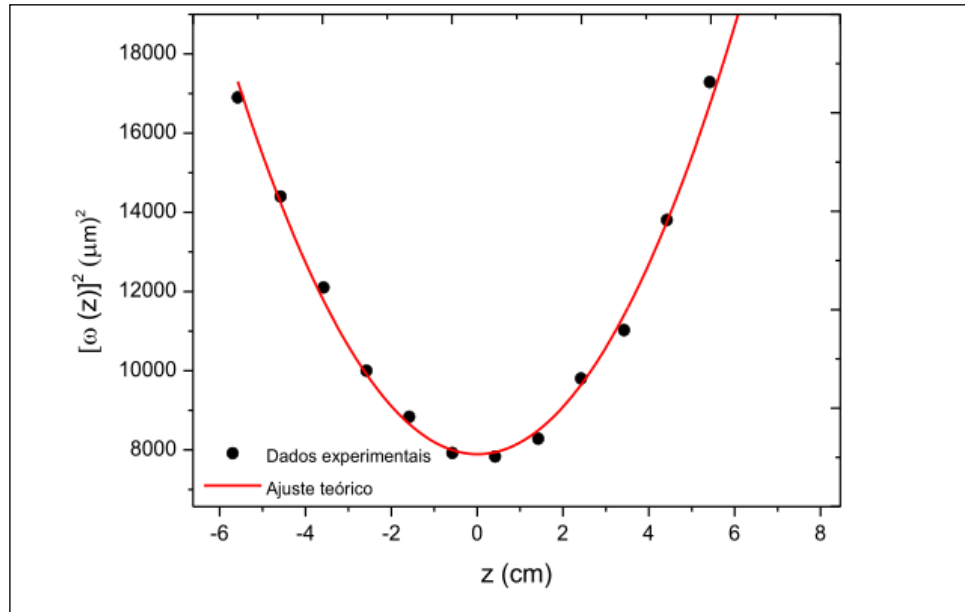


Gráfico 9. Diâmetro do feixe de excitação para o *laser* de argônio (457 nm) ao longo do eixo z.

Por meio do sinal de lente térmica alcançado na determinação antecedente foi constatada divergência na formação da lente térmica $\frac{dn}{dT} < 0$, esta consequência é comum à maioria de amostras líquidas verificadas em literaturas. Obtiveram-se sinais de lente térmica em diferentes potências para o óleo da polpa de Tucumã, a diferença de fase do feixe de prova em função da potência de excitação é apresentada no gráfico 10. A amplitude do sinal de lente térmica apresenta variação linear em relação a potência, estando de acordo com modelos teóricos. A difusividade térmica (D) da amostra pôde ser obtida por meio do tratamento dos dados obtidos pela lente térmica, a expressão matemática seguinte foi aplicada para este caso.

$$D = \frac{\omega^2_{\sigma e}}{4t_c} \quad (7)$$

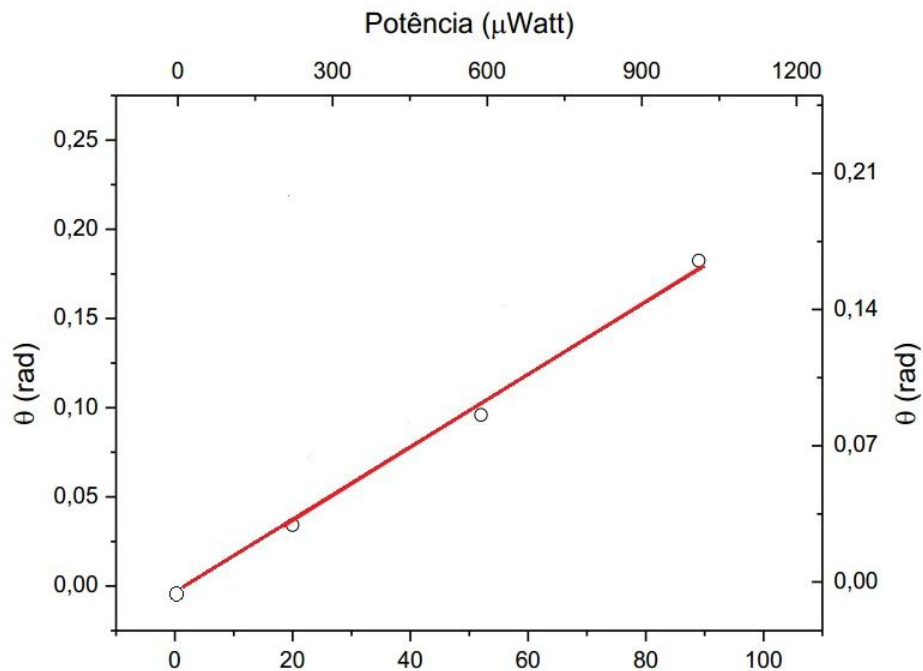


Gráfico 10. Amplitude do sinal de lente térmica por potência de entrada para o óleo de polpa de Tucumã.

A difusividade térmica ($10^{-4} \text{ cm}^2/\text{s}$) para o óleo da polpa de Tucumã foi igual a 11,8, obtido a partir do tempo de formação de 0,015 s. A partir desta medida foi possível detectar mais uma vez que a amostra é composta majoritariamente por ácidos graxos, isto porque os valores de difusividade térmica obtidos foram semelhantes aos valores de difusividade térmica do ácido oleico – $10,2 \pm 0,2$ ($10^{-4} \text{ cm}^2/\text{s}$). Albuquerque (2002) afirma que este comportamento é esperado para todos os óleos vegetais que apresentam características semelhantes em relação à quantidade e presença de ácidos graxos.

Deste modo, o óleo apresenta forte tendência em migrar elétrons, resultando em uma facilidade de transferência térmica.

4.1.2.5 Raios X por energia dispersiva (EDX)

Através das medidas de fluorescência de raios X por energia dispersiva foi possível determinar a presença e a quantidade de metais no óleo de polpa de Tucumã. Por meio de sinais de raios X característicos os metais presentes foram diagnosticados.

Na amostra analisada constataram-se em termos qualitativos os elementos enxofre, potássio, ferro, paládio, ródio, cobalto, silício, nióbio, titânio, contudo, sendo que a quantidade de alguns destes metais não foi considerada representativa. Entretanto, também foi realizado um ensaio quantitativo referente a composição metálica da amostra, resultando na determinação das quantidades de alguns dos metais presentes. Para o enxofre foi visualizada uma quantidade de 56,973%, silício 29,296%, potássio 10,316%, ferro 1,906% e cobalto 1,508%..

Tabela 5. Determinação quantitativa de metais no óleo de polpa de Tucumã

Metais	Símbolo	Quantidades (%)
Enxofre	S	56,973
Silício	Si	29,296
Potássio	K	10,316
Ferro	Fe	1,906
Cobalto	Co	1,508
Total		99,999

O enxofre presente no óleo é conferido ao alto índice de proteínas existente no fruto, desta maneira, tem-se que o enxofre verificado é proveniente das ligações peptídicas das proteínas.

A significativa presença de silício no óleo confere-se ao fato de que este elemento é abundante em espécies vegetais e atua como defensor natural de pragas. Indicando uma nova possível aplicação para este óleo.

4.1.3 Cromatografia gasosa e espectrometria de massa

Nas medidas de cromatografia gasosa acoplada a um espectrômetro de massas foi determinada a composição em ácidos graxos presente no óleo da polpa de Tucumã. Realizou-

se comparação entre os espectros obtidos e os padrões constantes na biblioteca existente no *software* instalado no computador acoplado ao cromatograma e ao espectrômetro. Baseando-se na área de cada pico e relacionando com a área total dos picos identificados foram definidos os percentuais dos ésteres constituintes da amostra. O Gráfico 11 é referente ao espectro gerado neste ensaio. Foi possível obter os quantitativos graxos presentes no óleo de polpa de Tucumã. Observou-se a ocorrência de 80,34% de ácidos graxos insaturados, com ênfase para o ácido oleico referente a 78,18% do total dos ácidos insaturados presentes.

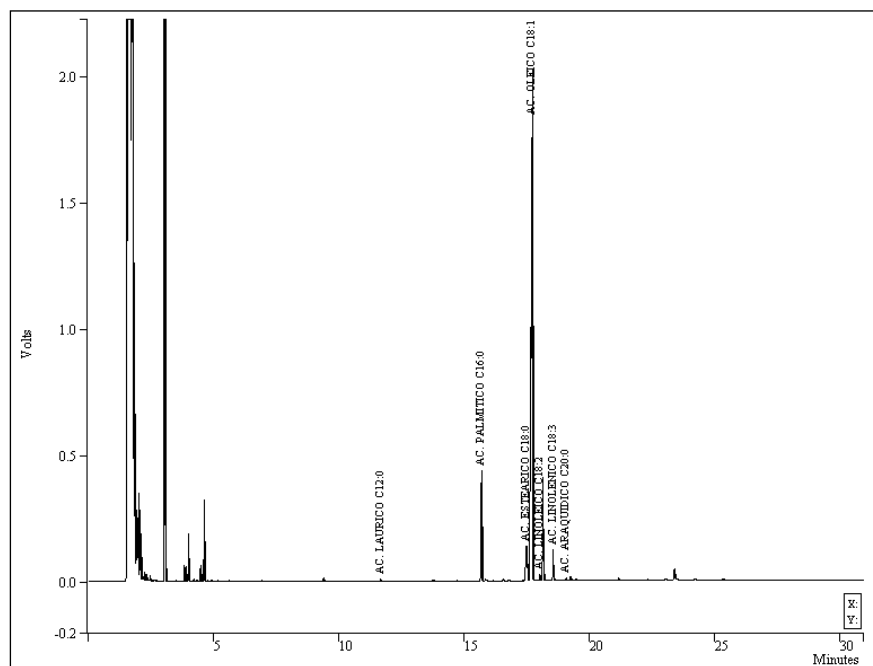


Gráfico 11. Perfil cromatográfico para o óleo da polpa de Tucumã.

Em relação ao ácido palmítico que se trata de um ácido graxo saturado foi detectada a presença de 7,40% deste ácido em relação a um total de 13,21% ácidos graxos saturados encontrados na amostra analisada. Na Tabela 6 são mostrados os ácidos graxos detectados e seus respectivos tempos de retenção na amostra.

Tendo como base que o somatório das quantidades de ácidos graxos saturados e insaturados presentes na amostra de óleo de Tucumã analisada foram iguais a 93,55% deduziu-se que esta diferença pode ter sido ocasionada por presença de impurezas na amostra avaliada.

Tabela 6. Composição em ácidos graxos do óleo da polpa do Tucumã e tempos de retenção

Ácidos graxos	Quantidade (%)	Tempo de retenção (min.)
SATURADOS		
Láurico	0,1076	11,642
Araquídico	0,1337	19,054
Palmítico	7,3988	15,669
Estearico	5,5725	17,478
INSATURADOS		
Oleico	78,1770	17,704
Linoleico	0,4564	17,998
Linolênico	1,7029	18,525

4.2 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE POR DPPH

A análise dos resultados obtidos neste método se baseou no princípio de que a absorção característica do DPPH no λ de 518 nm torna-se inexistente após a redução ocasionada pelo hidrogênio arrancado da substância oxidante.

Com este ensaio foram determinadas as resistências dos óleos de polpa de Tucumã e Buriti à oxidação. Tal determinação apresenta significativa importância tanto no âmbito alimentício quanto para fins cosméticos, terapêuticos, entre outros.

O DPPH é um radical livre, apresenta estabilidade e aceita um elétron ou um radical de hidrogênio a fim de tornar-se uma molécula diamagnética também estável, caráter este reduzido na presença de um antioxidante. Os antioxidantes são compostos capazes de proteger sistemas biológicos das ações e efeitos nocivos de processos ou reações causadoras de oxidações excessivas nas células.

Valores para CE_{50} , Tabela 7, foram obtidos por meio da análise dos r^2 e apresentaram linearidade adequada, tendo que $r^2 > 0,99$.

Tabela 7. Valores de CE₅₀ obtidos na análise das amostras

AMOSTRAS	*CE ₅₀ (µg mL ⁻¹) ± DP**
Óleo de polpa de Buriti	2394,01 ± 235,03
Óleo de polpa de Tucumã	521,13 ± 112,71
Rutina	13,89 ± 2,15
<i>Ginkgo biloba</i>®	41,58 ± 5,74

*concentração suficiente para obter 50% de um efeito máximo estimado em 100%.

**desvio padrão.

Foram considerados como valores de referência para comparação da atividade antioxidante dos óleos os resultados apresentados pelas amostras de *Ginkgo biloba*® e Rutina, respectivamente 41,58 µg mL⁻¹ e 13,89 µg mL⁻¹.

Optou-se por estas duas substâncias como padrões por uma delas ser vegetal com alto caráter antioxidante (*Ginkgo biloba*®) e outra por se tratar de uma substância pura já assinalada como um antioxidante, segundo Mensor e colaboradores (2001).

Comparando os óleos de polpa de Tucumã e Buriti, constatou-se que o primeiro apresentou atividade antioxidante aproximadamente 5 vezes superior ao óleo da polpa de Buriti. Entretanto, ao avaliar os valores apresentados pelos óleos em comparação com os padrões utilizados observou-se que ambos apresentaram baixa atividade.

A relação matemática existente entre a atividade antioxidante e o valor de CE₅₀ é inversamente proporcional, quanto maior o valor de CE₅₀ menor será o perfil antioxidante, posto que mais amostra fosse necessária para alcançar a redução do radical em 50% (SOUSA, 2009).

O óleo de polpa de Tucumã apresentou atividade antioxidante cerca de 12 vezes inferior quando comparado ao padrão *Ginkgo biloba*®, enquanto que para o óleo de polpa de Buriti foi observada atividade 57 vezes inferior comparando ao mesmo padrão. Um fator possível de ter influenciado nesta determinação foi o alto índice de acidez apresentado pelo óleo de polpa de Buriti, 9,40 mgKOH/g, já o óleo de polpa de Tucumã apresentava índice de acidez igual a 2,60 mgKOH/g.

Análises realizadas por Carneiro (2011) com óleo bruto de polpa de Buriti evidenciaram que nestas condições o óleo apresenta baixa capacidade antioxidante, além de baixos teores de flavonoides e compostos fenólicos.

4.3 PREPARO DE NANOEMULSÃO

As emulsões obtidas nos ensaios não possuíam aparência esperada para emulsão em escala nanométrica. Realizou-se teste de estabilidade visual colocando-as em repouso e avaliando a aparência a cada intervalo de tempo pré-determinado. Após 24 horas de repouso ainda foi observada a separação de fases.

Conforme Capek (2004) por serem constituídas por dispersões consideravelmente finas, em média dimensões inferiores a 200 nm, o esperado é que nanoemulsões apresentem aspecto translúcido. Contudo, quando as dimensões aproximam-se do intervalo de 200 a 500 nm espera-se aspecto de uma mistura leitosa. Na Figura 26 apresenta-se os sistemas obtidos e a evidente separação de fases.

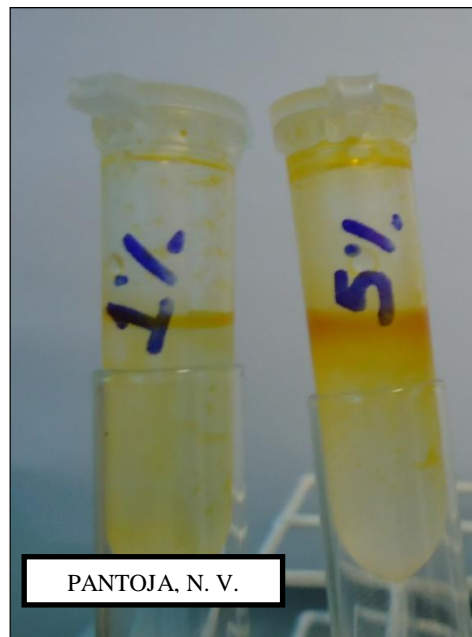


Figura 26. Sistemas obtidos no preparo de nanoemulsão com óleo de polpa de Tucumã.

5 CONCLUSÕES

Através dos resultados dos estudos da obtenção, caracterização físico-química e espectroscópica do óleo de *Astrocaryum aculeatum Meyer* para aplicações Nanobiotecnológicas, se pode concluir que:

- 1) As propriedades físico-química e espectroscópica estudadas permitem aplicações em formulações e cosméticos, devido às propriedades benéficas às células, como os antioxidantes presentes no óleo;
- 2) As análises espectroscópicas indicam a presença de carotenoides, como β -caroteno e ácidos, como o oleico e palmítico;
- 3) O óleo de polpa de Tucumã possui propriedades antioxidantes, em torno de 5 vezes, superior quando comparado ao óleo de polpa de Buriti extraído por prensagem;
- 4) Os ensaios de Nanoemulsão realizados não apresentaram a aparência esperada para sistemas emulsionados;
- 5) A extração de óleo com uso de solvente em ebulição é uma técnica vantajosa, principalmente pelo índice de acidez que não é afetado no processo. Essa característica é evidenciada através das análises físico-químicas, inclusive os demais índices (peróxido, iodo, saponificação) apresentam-se de acordo com os valores preconizados pela ANVISA;
- 6) Palmeiras de Tucumã são facilmente encontradas em áreas de pastagens no transcorrer da BR 317, confirmando ser uma espécie resistente a solos pobres e queimadas.

REFERÊNCIAS

- AGÊNCIA DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA. **Regulamento Técnico Para Óleos Vegetais, Gorduras Vegetais e Creme Vegetal**. Resolução n° 270, de 22 de setembro de 2005. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília-DF. 23 de set. 2005.
- ALBUQUERQUE, T. A. S. **Aplicação da espectroscopia de lente térmica na investigação das propriedades ópticas e térmicas de óleos vegetais comestíveis**. 2002. 112 f. Dissertação (Mestrado em Física) – Centro de Ciências Exatas e da Terra, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2002.
- ASSIS, L. M. de; ZAVAREZA, E. da R.; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C.; SOUZA-SOARES, L. A. de. Características de nanopartículas e potenciais aplicações em alimentos. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 15, n. 2, p. 99-109, abr./jun. 2012. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/bjft/v15n2/aop_0711.pdf>. Acesso em: 21 maio 2013.
- BRUCE, P. Y. **Química orgânica**. 4. ed. 1. v. Tradução Débora Omena Futuro, Alessandra Leda Valverde, Carlos Magno Rocha Ribeiro, Estela Maris Freitas Muri, Maria Behrens, Thelma de Barros Machado. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2006. 590 p. Tradução de: Organic Chemistry.
- CAMBION, L. **Palmeiras cultivadas**. Fruticultura irrigada. 2001. Disponível em: <http://tede.inpa.gov.br/tde_busca/arquivo.php?codArquivo=214>. Acesso em: 04 mar. 2013.
- CAPEK, I. Degradation of Kinetically-satable o/w emulsion. **Advances in Colloid Interfacial Science**. Amsterdam, v. 107, p. 125-155, 2004.
- CARNEIRO, T. B. **Potencial funcional e tecnológico da polpa e óleo do buriti (*Mauritia flexuosa* L.) como matéria-prima e como ingrediente em pão de forma**. 2011. 103 f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2011.
- CARVALHO, C. O. de. **Comparação entre métodos de extração do óleo de *Mauritia flexuosa* L. f. (Arecaceae – buriti) para o uso sustentável na reserva de desenvolvimento tupé: rendimento e atividade antimicrobiana**. 2011. 109 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia e Recursos Naturais) – Escola Superior de Ciência da Saúde, Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, 2011.
- CLEMENT, C. R.; PÉREZ, E. L.; VAN LEEUWEN, O. Potencial das palmeiras tropicais no Brasil: acertos e fracassos das últimas décadas. **Agrociências**, Montevideu, v. 9, n. 1-2, p. 67-71, 2005.
- COSTA, J. R.; VAN LEEUWEN, J. O uso do tucumã (*Astrocaryum aculeatum* Meyer) por produtores rurais em áreas alteradas e degradadas no estado do Amazonas. In: SIMPÓSIO NACIONAL SOBRE RECUPERAÇÃO DE ÁREAS DEGRADADAS (SINRAD): ÁGUA

- E BIODIVERSIDADE, 5.; 2002, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: SOBRADE, 2002. p. 311-312.
- COSTA, T. L. **Características físicas e físico-químicas do óleo de duas cultivares de mamona.** 2006. 113 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Centro de Ciências e Recursos Naturais, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2006.
 - EGIPTO, E.S.T., SILVA, J.A.; DAMASCENO, B.P.G.L.; BORBA, V.F.C.; SANTANA, D.P., **Use of pseudo-ternary phase diagrams as a tool to produce transdermal nanoemulsion,** Rev. Bras. Farm., 90(3): 245-249 2009.
 - FALCÃO, E. A.; EIRAS, J. A.; GARCIA, D.; MEDINA, A. N.; BAESSO, M. L. A utilização da técnica de lente térmica para a análise das propriedades térmicas de materiais transparentes. **Cerâmica**, São Paulo, v. 55, n. 334, p. 337-340, fev. 2009. Disponível em <<http://www.scielo.br/pdf/ce/v55n335/v55n335a15.pdf>>. Acesso em: 16 maio 2013.
 - FAO. **Food and fruit-bearing forest species.** v. 3. Examples from Latin America, food and agriculture organization of the United Nations, Rome, 1986.
 - FERREIRA, E. de S.; LUCIEN, V. G.; AMARAL, A. S.; SILVEIRA, C. da S. Caracterização físico-química do fruto e do óleo extraído de tucumã (*Astrocaryum vulgare* Mart). **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 19, n. 4, p. 427-433, out./dez. 2008. Disponível em: <<http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/alimentos/article/viewFile/652/548>>. Acesso em: 02 set. 2013.
 - FERREIRA, S. A. N.; GENTIL, D. F. O. Extração, embebição e germinação de sementes de tucumã (*Astrocaryum aculeatum*). **Acta Amazônica**, Manaus, v. 36, n. 2, p. 141-146, 2006.
 - FERREIRA, S. A. N.; GENTIL, D. F. O. Beneficiamento, pré-tratamento e germinação de sementes de tucumã (*Astrocaryum aculeatum* Meyer-Arecaceae). In: XVII Congresso Brasileiro de Fruticultura, **Resumos...** Belém, 2002.
 - FIGUEIRA, L. C. **Espectroscopia vibracional (no infravermelho e raman) e espectrofotometria de absorção uv-vis dos óleos de buriti (*Mauritia flexuosa*) e de patauá (*Oenocarpus bataua*).** 2012. 43 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Naturais da Amazônia) – Universidade Federal do Oeste do Pará, Santarém, 2012.
 - FLORENCE, A. T.; ATTWOOD, D. **Princípios físico-químicos em farmácia.** 3. ed. São Paulo: Edusp, 2003. 732 p.
 - FRANKE, I. L. **Principais usos e serviços de árvores e arbustos promissores que ocorrem em pastagens no Estado do Acre.** EMBRAPA, Acre. 1999. 6 p.
 - GODOY, H. T.; RODRIGUES-AMAYA, D. B. Changes individual carotenoids on processing and storage of mango (*Mangifera indica*) slices and puree. **International Journal of Food Science Technology**, Amsterdã, v. 22, p. 451, 1987.
 - GONÇALVES, M. de L. S. S. **Métodos instrumentais para análise de soluções:** análise quantitativa. 4. ed. cor. e aum. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2001. 1050 p.

- GOOGLE EARTH. **Estado do Acre**. Disponível em: <http://www.google_earth.com.br>. Acesso em: 29 maio 2013.
- GRAZIOLA, F.; SOLIS, V. S.; CURI, R. Estrutura e classificação dos ácidos graxos. In: CURI, R.; POMPÉIA, C.; MIYSAKA, C. K.; PROCOPIO, S. (Ed.). **Entendendo a gordura: os ácidos graxos**. Barueri: Manole, 2002. 580 p.
- HAYNES, J.; MCLAUGHLIN, J. **Edible palms and their uses**. Institute of Food and Agricultural Sciences/University of Florida Cooperative Extension Service, 2000. 13 p.
- HENDERSON, A. **The palms of the Amazon**. Oxford University Press, New York, 1995. 362 p.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. 3. ed. v. 1. São Paulo: O Intituto, 1985. 1020 p.
- KAHN, F.; MOUSSA, F. Economic importance of *Astrocaryum aculeatum* (Palmae) in central Brazilian Amazonia. **Acta Botánica Venezuelica, Caracas**, v. 22, p. 237-245, 1999.
- KEMERICH, P. D. C.; SILVA, J. L. S.; BARROS, G.; BORBA, W. F.; UCKER, F. E.; FOLETTO, C. V. Caracterização química da água subterrânea em área ocupada por cemitério: uso da técnica de espectrometria de fluorescência de raios-X por energia dispersiva (EDXRF). **Ambi-Agua**, Taubaté, v. 7, n. 3, p. 166-182, 2012.
- LEE, E. C.; MIN, D. B. Queenching mechanism of carotene on the clorophyll sensitized photooxidation of soybean oil. **Journal Food Science**, Chigago, v. 53, n. 6. p. 1894-1895, 1988.
- LOPES, M. T. G.; MACÊDO, J. L. V.; LOPES, R.; VAN LEEWEN, J.; RAMOS, S. L. F.; BERNARDES, L. G. Domesticação e melhoramento do tucumã-do-Amazonas. In: BORÉM, A.; LOPES, M. T. G.; CLEMENT, C. R. (Org.) **Domesticação e melhorameto: especies amazônicas**. UFV, Viçosa, MG, p. 425-442. 2009.
- LORENZI, H.; SOUZA, H. M.; MEDEIROS-COSTA, J. T.; CERQUEIRA, L. S. C.; FERREIRA, E. **Palmeiras brasileiras e exóticas cultivadas**. Nova Odessa: Editora Plantarum, 2004. 44 p.
- LORENZI, H.; SOUZA, H. M.; MEDEIROS-COSTA, J. T.; CERQUEIRA, L. S. C.; BEHR, N. **Palmeiras do Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Editora Plantarum, 1996. 320 p.
- MENDONÇA, M. S. **Aspectos morfológicos das sementes de algumas espécies de palmeiras (Arecaceae = Palmae) da Amazônia**. 1996, 68 f. Tese (Doutorado em Anatomia Vegetal) – Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 1996.
- MENSOR L.L.; MENEZES, F. S.; LEITÃO, G. G.; REIS, A.S.; SANTOS, T. C. dos; COUBE, C. S.; LEITÃO, S. G. Screnning of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytotherapy Research**, v. 15, n. 3, p. 127-130, 2001.

- MORETTO, E.; FETT, R. **Definição de óleos e gorduras: tecnologia de óleos e gorduras vegetais na indústria de alimentos.** São Paulo: Varela, 1998. 144 p.
- NOGUEIRA, M. B.; FERREIRA, P. B.; ZAMBIAZI, R. Avaliação da qualidade de óleo de soja de um restaurante universitário utilizado na fritura de empanados. In: ENPOS, 12, 2010, Pelotas. **Anais eletrônicos...** Pelotas: UFPEL, 2010. Disponível em: <http://www.ufpel.edu.br/cic/2010/cd/pdf/CA/CA_00686.pdf>. Acesso em: 15 maio 2013.
- OLIVEIRA, M. S. P.; COUTURIER, G.; BESERRA, P. Biologia da polinização da palmeira de tucumã (*Astrocaryum vulgare* Mart.) em Belém, Pará, Brasil. **Acta Botânica Brasilica**, São Paulo, v. 17, p. 343-353, 2003.
- PANTOJA, N. V.; REGIANI, A. M. Estudo do fruto do tucumã (*Astrocaryum aculeatum*) para obtenção de óleo e síntese de biodiesel. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 29, Águas de Lindoia, 2006. **Anais...** Águas de Lindoia, 2006.
- PANTOJA, N. V.; REGIANI, A. M. Obtenção de óleo e síntese de biodiesel a partir da amêndoa do fruto do tucumã (*Astrocaryum aculeatum*). In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 30, Águas de Lindoia, 2007. **Anais...** Águas de Lindoia, 2007.
- PASSOS, J. P. R. dos. **Espectroscopia de lente térmica aplicada do sistema ácido oleico/betacaroteno.** 2007. 119 f. Dissertação (Mestrado em Física) – Universidade Federal do Pará, Belém, 2007.
- PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R. **Introdução à espectroscopia.** 4. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2010. 716 p.
- PEREIRA, N. S. **Estudo comparativo entre PS/ β -caroteno e OS/ácido oleico com PS/óleo de buriti (*Mauritia flexuosa*) e preparação e caracterização dos materiais PS/óleo de açaí (*Euterpe oleraceae* Mart).** 2008. 106 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade de Brasília, Brasília-DF, 2008.
- PEREIRA, T. A. **Obtenção e caracterização de nanoemulsões O/A a base de óleos de framboesa, maracujá e pêssego: avaliação de propriedades cosméticas da formulação.** 2011. 102 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2011.
- RAMOS, S. L. F.; LOPES, M. T. G.; LOPES, R.; CUNHA, R. N. V. da; MACÊDO, J. L. V. de; CONTIM, L. A. S.; CLEMENT, C. R.; RODRIGUES, D. P.; BERNARDES, L. G. Determination of the mating system of Tucumã palm using microsatellite markers. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 11, p. 181-185, 2011.
- REDA, S. Y.; CARNEIRO, P. B. Estudo da termo-oxidação de óleos vegetais por espectroscopia no ultravioleta-visível. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 40, n. 1, p. 48-53, jan./mar. 2009.
- ROSSO, V. V. de; MERCADANTE, A. Z. Identification and qualification of carotenoids, by HPLC-PDA-MS/MS, from Amazonian fruits. **Journal of agricultural and food chemistry**, Washington, DC, v. 55, n. 13, p. 5062-5072, June, 2007.

- SCHROTH, G.; HARVEY, C. A.; VICENT, G. Complex agroforests: their structure, diversity, and potential role in landscape conservation. In: SCHROTH, G.; FONSECA, G. A. B.; HARVEY, C. A.; GASCON, C.; VASCONCELOS, H. L.; IZAC, A. M. N. (Org.). **Agroforestry and biodiversity conservation in tropical landscapes**, Island Press, Washington, DC, p. 227-260. 2004.
- SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 7. ed. Tradução Ricardo Bicca de Alencastro. Rio de Janeiro: LTC, 2007. 490 p. Tradução de: Spectrometric identification of organic compounds.
- SKOOG, D. A.; HOLLER, J. F.; CROUCH, S. R. **Princípios de análise instrumental**. 6. ed. Porto Alegre: Bookman, 2009a. 1056 p.
- SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. **Fundamentos de química analítica**. 8. ed. Tradução Marco Tadeu Grassi. São Paulo: Cengage Learning, 2009b. 999 p. Tradução de: Fundamentals of analytical chemistry.
- SKOOG, D. A.; HOLLER, J. F.; NIEMAN, T. A. **Princípios de análise instrumental**. 5. ed. Porto Alegre: Bookman, 2002. 836 p.
- SOFFNER, M. E. **Efeito anômalo nas medidas de lente térmica em vidros com pontos quânticos de CdTe**. 2005. 76 f. Dissertação (Mestrado em Física) – Instituto de Física, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.
- SOUSA, M. S. B. **Caracterização química e nutricional, e capacidade antioxidante *in vitro* de resíduos de polpas de frutas tropicais**. 2009. 75 f. Monografia (Graduação em Tecnologia de Alimentos). Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Piauí, Teresina, 2009.
- THADROS, T.; IZQUIERDO, P.; ESQUENA, J.; SOLANS, C. Formation and stability of nanoemulsions. **Advance in Colloid and Interface Science**. Lyon, v. 108-109, p. 303-318, May, 2004.
- UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS. Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos**. Campinas: UNICAMP, 2011. 161 p.
- VOLLHARDT, K. P. C.; SCHORE, N. E. **Química orgânica: estrutura e função**. 4. ed. Tradução Ricardo Bicca de Alencastro, Flavia Martins da Silva, Pierre Mothé Esteves, Rodrigo José Corrêa, Ricardo Sercheli. Porto Alegre: Bookman, 2004. p. 1112. Tradução de: Organic chemistry: structure and function.
- WARNER, K.; FRANKEL, E. N. Effects of β -carotene on light stability of soybean oil. **Journal of the American Oil Chemist's Society**, Champaign, v. 64, n. 2, p. 213-218, 1987.
- YUYAMA, L. K. O.; MAEDA, R. N.; PANTOJA, L.; AGUIAR, J. P. L.; MARINHO, H. A. Processamento e avaliação da vida-de-prateleira do tucumã (*Astrocaryum aculeatum* Meyer) desidratado e pulverizado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 2, p. 408-412, abr./jun. 2008.