

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E BIOTECNOLOGIA - REDE BIONORTE



DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOEMULSÃO DE ÓLEO DE AÇAÍ – DE - TOUCEIRA (Euterpe oleracea Martius)

KATIUSCIA SHIROTA IMADA

Rio Branco - AC

KATIUSCIA SHIROTA IMADA

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOEMULSÃO DE ÓLEO DE AÇAÍ – DE – TOUCEIRA (Euterpe oleracea Martius)

Tese de doutorado apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia - Rede BIONORTE, na Universidade Federal do Acre, como requisito para a obtenção do Título de Doutora em Biodiversidade e Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Fernando Sérgio Escócio Drummond Viana de Faria.

Coorientador: Prof. Dr. Anselmo Fortunato Ruiz Rodriguez.

Coorientador: Prof. Dr. César Arruda Meschiari

Rio Branco - AC

JUNHO/2024

FICHA CATALOGRÁFICA

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da UFAC

I31d Imada, Katiuscia Shirota, 1975 -

Desenvolvimento e caracterização de nanoemulsão de óleo de açaí-de-touceira (*Euterpe oleracea* **Martius**) / Katiuscia Shirota Imada; orientador: Prof. Dr. Fernando Sérgio Escócio Drummond Viana de Faria, coorientador: Prof. Dr. Anselmo Fortunato Ruiz Rodriguez, coorientador: Prof. Dr. César Arruda Meschiari. – 2024. 100 f.: il.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Acre, Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede BIONORTE. Rio Branco, 2024.

Inclui referências bibliográficas e anexos.

 Nanobiotecnologia.
 Frutas - Amazônica.
 Açaí.
 I. Faria, Fernando Sérgio Escócio Drummond Viana de (orientador).
 II. Rodriguez, Anselmo Fortunato Ruiz (coorientador).
 IV. Título.

CDD: 338.1

Bibliotecária: Alanna Santos Figueiredo - CRB 11º/1003.

KATIUSCIA SHIROTA IMADA

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOEMULSÃO DE ÓLEO DE AÇAÍ – DE – TOUCEIRA (Euterpe oleracea Martius)

Tese de doutorado apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia - Rede BIONORTE, na Universidade Federal do Acre, como requisito para a obtenção do Título de Doutora em Biodiversidade e Biotecnologia.

Aprovada em:

Banca examinadora:

Prof. Dr. Fernando Sérgio Escócio Drummond Viana Faria (Orientador)
Universidade Federal do Acre

Prof. Dr. Antônio Alves de Melo Filho
Universidade Federal de Roraima

Prof. Dr. Marcos Silveira
Universidade Federal do Acre

Prof. Dr. Roberto Nicolete
Fiocruz Ceará

Prof. Dr. Luís Eduardo Maggi

Universidade Federal do Acre

TERMO DE AUTORIZAÇÃO PARA PUBLICAÇÃO

Eu, Katiuscia Shirota Imada, (X) autorizo () não autorizo a publicação da versão final aprovada de minha Tese de Doutorado intitulada "Desenvolvimento e caracterização de nanoemulsão de óleo de açaí – de – touceira (E*uterpe oleracea* Martius)" no Portal do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia - Rede BIONORTE (PPG-BIONORTE), bem como no repositório de Teses da CAPES ou junto à biblioteca da Instituição Certificadora.

Rio Branco, 21 de junho de 2024.

Katiuscia Shirota Imada

CPF: 662.568.361-20

RG: 1256934-8 SEPC - AC



AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus pelo dom da vida e ter me orientado e sustentado diante das dificuldades e por permitir conhecer pessoas que me ajudaram nesta caminhada acadêmica.

À minha mãe que não mediu esforços para me apoiar durante a realização do doutorado e ao meu pai (*in memorian*) que torcia muito para a finalização do meu doutorado e que não teve tempo para comemorar o nosso título.

Ao meu filho Heitor Hideki por quem busquei forças para trabalhar e me dedicar ao doutorado.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Fernando Sérgio Escócio Drummond Viana de Faria, pelas orientações, apoio e confiança.

Ao Prof. Dr. Anselmo Fortunato Ruiz Rodriguez pelas palavras de incentivo quando pensei em desistir de tudo e pela orientação na pesquisa.

Ao Prof. Dr. César Arruda Meschiari pela paciência, apoio e auxílio nos experimentos celulares.

Ao Professor Gilberto Aquino (UFG / PF) pelo apoio e oportunidade de execução da cromatografia gasosa no Laboratório da Superintendência da Polícia Federal no Acre.

Ao Professor Dr. Eduardo Ramirez Aschieri (UFG) por abrir as portas do seu laboratório de Química e Bioquímica de Alimentos por me receber para a realização dos experimentos de atividade antioxidante.

Aos Professores Dr. Marcos Silveira, Dr. Roberto Nicolete, Dr. Antônio Alves de Melo Filho por deixarem suas atribuições diárias para participar da minha banca de qualificação.

Aos Professores Luís Eduardo Maggi, Dr. Marcos Silveira, Dr. Roberto Nicolete e Dr. Antônio Alves de Melo Filho por participar da minha banca de defesa de Tese e contribuir para a melhoria do produto final.

Ao colega Marcelo Ramon da Silva Nunes pela ajuda nos experimentos no Laboratório de Nanobiotecnologia no Complexo Bionorte – UFAC e pelas palavras de incentivo diariamente.

Ao colega Anderson Ramos pelo auxílio nas análises de TGA no Laboratório de Síntese de Nanocompósitos.

Ao químico e técnico Me. Guaracy Barbosa dos Santos Maia da UFAC, pelo auxílio nas análises dos óleos vegetais e pelos reagentes disponibilizados.

As colegas da Universidade Federal de Goiás, Rayssa Dias Batista e Aline pela paciência pelo ensino dos experimentos de capacidade antioxidantes.

Aos amigos da Unidade de Tecnologia de Alimentos (UTAL) da Universidade Federal do Acre, Esp. Rui Santana de Menezes, Me. Osmar da Silva Torres e Ludmilla da Silva Brandão pelo auxílio nas análises realizadas.

Aos colegas que ingressaram comigo no doutorado da Rede Bionorte, Guiomar Almeida Sousa Diniz, Márcia Teixeira Silva, Sebastião Fernando Ferreira Lima, Anderson Luís Ramos e Geyse Souza Santos.

Ao secretário do curso de PPG Bionorte/AC, Gabriel Farias pelos atendimentos e apoio.

À Universidade Federal do Acre e ao PPG Bionorte - Acre pela oportunidade de aprendizado e qualificação profissional.

Aos meus colegas professores do curso de nutrição da Universidade Federal do Acre, professores Dra. Fernanda Andrade Martins, Dra. Camyla Rocha de Carvalho Guedine, Dra. Bruna da Costa Viana, Dr. Alanderson Alves Ramalho, Dr. Reginaldo Ferreira da Silva, Dra. Vânia Thaís Silva Gomes, Me. Eline Messias de Oliveira, Dra. Danila Torres de Araújo Frade Nogueira, Me. Suellem Maria Bezerra de Moura, Dra. Flávia Santos Batista Dias, Me. Francisca de Souza Santiago, Me. Tatiane Dallamaria, Esp. Danielle Ferreira do Nascimento Linard, Me. Caroliny Izabel Araújo de Freitas, Me. Ronaira da Costa Ferreira Almeida, Esp. Susiane Adrine de Araújo Santiago, Esp. Thays da Silva Nogueira Charife, Esp. Maíra da Costa Silva Redon, Esp. Glenda Toscano Rodrigues e Dra. Tamires Alcântara Dourado Gomes Machado.

À secretária do curso de bacharelado em nutrição, Andréa Côta pelas palavras de incentivo e apoio sempre.

Enfim, a todos que contribuíram diretamente e indiretamente para a realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

Ressoe o mar e tudo o que nele existe! Regozijem-se os campos e tudo o que neles há! Cantem de alegria todas as árvores da floresta, Salmos 96:11-12 IMADA, Katiuscia Shirota. **Desenvolvimento e caracterização de nanoemulsão de óleo de açaí** – **de** – **touceira** (*Euterpe oleracea* **Martius**). 2024. 94 f. Tese (Doutorado em Biodiversidade e Biotecnologia) – Universidade Federal do Acre, Rio Branco, 2024.

RESUMO

A riqueza da biodiversidade amazônica se apresenta como imensurável fonte de matériasprimas e os óleos vegetais, como do açaí – de – touceira (Euterpe oleracea Mart.), uma oleaginosa predominantemente encontrada na Amazônia. O óleo do açaí é uma promissora matéria-prima não só para a indústria farmacêutica, mas também como para uso cosmético e alimentar. Nanoemulsões são dispersões coloidais caracterizadas por apresentarem glóbulos de tamanho nanométrico, o que lhes confere estabilidade cinética. A encapsulação de óleo em sistemas nanoemulsionados é uma alternativa encorajadora, devido ao óleo apresentar baixa estabilidade durante a armazenagem e a dificuldade de incorporação devido ao seu caráter hidrofóbico. Nesse contexto, esta Tese teve como objetivo principal desenvolver nanoemulsão de óleo de açaí – de – touceira (E. oleraceae Mart.) do tipo óleo em água. O desenvolvimento de nanoemulsão a partir de óleo de açaí foi constituído em duas fases distintas. A primeira atrelada ao conhecimento do óleo, quanto suas propriedades físico-químicas, pelos parâmetros de índice de peróxido, índice de acidez, índice de saponificação, índice de iodo, índice de refração e densidade, além das análises de termogravimetria, análise térmica diferencial e espectroscopia transformada de Fourier; a constituição química do óleo por cromatografia a gás, atividades antioxidantes e análise microbiológica. A segunda e principal fase, consistiu no estudo de obtenção e caracterização da nanoemulsão utilizando óleo de açaí como fase oleosa. Para a produção da nanoemulsão foi utilizado um homogeneizador ultrassônico. A estabilidade físico-química da nanoemulsão foi avaliada por meio das medidas do diâmetro utilizando os testes de índice de polidispersividade, tamanho de partícula, pH, potencial Zeta e pela microscopia eletrônica de transmissão. Na caracterização dos parâmetros físico-química do óleo do açaí, a densidade de massa foi de 0,83±0,01 g.cm⁻¹ a 24°C; índice de refração foi de 1,46; índice de acidez de 1,85±0,15 mg KOH.g⁻¹; índice de saponificação de 180,95±0,73 mg KOH.g⁻¹, índice de peróxidos 8,25±0,003 meq.kg⁻¹ e índice de iodo com 76±10,7 gI² 100.g⁻¹. Para espectroscopia na região de absorção do infravermelho, apresentou estiramentos característicos a estrutura geral do triglicerídeo. Na análise térmica o óleo apresentou-se termicamente estável até a temperatura de 412°C. No perfil de ácidos graxos o ácido graxo saturado, sendo o Ácido palmítico (40,7%) se mostrou majoritário, seguindo do ácido graxo monoinsaturado, o Ácido oleico (34,7%); a atividade antioxidante pelos métodos DPPH•, FRAP, ABTS*+ e β-caroteno/ácido linoleico apresentaram $EC_{50} = 291,33\pm1,75, 57,05\pm1,84 \ \mu m de FeSO_4.g^{-1}, 18,91\pm1,86 \ \mu M$

Trolox.g⁻¹ e 88,66±1,90% de inibição, respectivamente. Não foi observado crescimento de fungos filamentosos, leveduras e coliformes; o crescimento dos mesófilos foram abaixo do limite de 10⁵ UFC.mL⁻¹. Foi possível obter uma nanoemulsão estável a partir da mistura de com 5% de óleo de açaí e 1% tensoativos, que apresentaram os seguintes parâmetros, o 28,04±0,22 nm tamanho médio de partícula, -25,90±0,83 mV do potencial Zeta, 0,347±0,05 de índice de polidispersidade e o pH de 6,90±0,10. A partir dos resultados obtidos, pode-se concluir que a nanoemulsão do óleo de *E. oleracea* Mart. é uma alternativa promissora, agregando valor a cadeia de comercialização desse fruto.

Palavras-chave: Nanobiotecnologia; Potencial Zeta; Fruta amazônica; Óleo de *E. oleracea* Mart.; Produtos nanoestruturados.

IMADA, Katiuscia Shirota. **Development and characterization of caespitose açai oil nanoemulsion** (*Euterpe oleracea* **Mart.**). 2024. 94 f. Thesis (Ph.D. in Biodiversity and Biotechnology) - Federal University of Acre, Rio Branco, 2024, AC - Brazil, 2024.

ABSTRACT

The richness of Amazonian biodiversity presents an immeasurable source of raw materials and vegetable oils, such as caespitose açai (Euterpe oleracea Mart.), an oilseed predominantly found in the Amazon. Acai oil is a promising raw material not only for the pharmaceutical industry, but also for cosmetic and food use. Nanoemulsions are colloidal dispersions characterized by having nanometric-sized globules, which provide kinetic stability. Oil encapsulation in nanoemulsified systems is a promising alternative, as the oil has low stability during storage and difficulty in incorporation due to its hydrophobic nature. In this context, the main objective of this doctoral thesis was to develop açai oil (E. oleraceae Mart.) nanoemulsion of the oil-in-water type. The development of nanoemulsion from açai oil consisted of two distinct phases. The first consisted of knowledge of the oil, regarding its physical-chemical properties, through the parameters of peroxide index, acidity index, saponification index, iodine index, refractive index and density, in addition to thermogravimetry analyses, differential thermal analysis and Fourier transform spectroscopy; the chemical constitution of the oil by gas chromatography, antioxidant activities and microbiological analysis. The second and main phase consists of the study of obtaining and characterizing the nanoemulsion using açai oil as the oily phase. To produce the nanoemulsion, an ultrasonic homogenizer was used. The physicochemical stability of the nanoemulsion was evaluated by measuring the diameter using the polydispersity index, droplet size, pH, Zeta potential tests and by scanning electron microscopy. In characterizing the physical-chemical parameters of açai oil, the mass density was 0.83±0.01 g.cm⁻¹ at 24 °C; refractive index was 1.46; acid value 1.85±0.15 mg KOH.g⁻¹; saponification index of 180.95±0.73 mg KOH.g⁻¹, peroxide index of 8.25±0.003 meg.kg⁻¹ and iodine index of 76±10.7 gI2 100.g⁻¹. For spectroscopy in the infrared absorption region, specific stretches of the general structure of the triglyceride were presented. In thermal analysis, the oil was thermally stable up to a temperature of 412°C. In the profile of saturated fatty acids, the saturated fatty acid, palmitic acid (40.7%) was the majority, followed by the monounsaturated fatty acid, oleic acid (34.7%); the antioxidant activity by the DPPH•, FRAP, ABTS•+ and β-carotene/linoleic acid methods showed EC₅₀ = 291.33±1.75, 57.05±1.84 μm FeSO4/g, 18.91±1,86 μM Trolox.g⁻¹ and 88.66±1.90% inhibition, respectively. No growth of filamentous fungi, yeasts and coliforms was observed; mesophilic growth was well below the limit of 10⁵ CFU.mL⁻¹. It was possible to obtain a stable nanoemulsion

from the mixture of 5% açai oil and 1% surfactants, which occurred in the following parameters, 28.04 ± 0.22 nm average particle size, -25.90 ± 0 , 83 mV of Zeta potential, 0.347 ± 0.05 of polydispersity index and pH of 6.90 ± 0.10 . From the results obtained, we can conclude that the *E. oleracea* oil nanoemulsion is a promising alternative, adding value to the trade chain for this fruit.

Keywords: Nanobiotechnology; Zeta potential; Amazonian fruit; *E. oleracea* oil; Nanostructured products.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Os tipos de Nanoemulsão.	29
Figura 2 - Coordenadas geográficas do local da coleta do açaí (E. oleraceae Mart.) em Rio Brand	со
- AC	36
Figura 3 – Metodologia de extração do óleo de açaí – de – touceira (<i>E. oleraceae</i> Mart.) por Blig	gh
e Dyer (1959) modificado	37
Figura 4 - Metodologia da análise do óleo de açaí por Cromatografia Gasosa acoplada	
espectrometria de massa, Análise Térmica por Termogravimetria (TG) e Análise Térmic	ca
Diferencial (DTA) e Espectrometria na região do Infravermelho	13
Figure 5 Ólas de essá systesádo melo metodologio de Pligh e Dyen (1050)	50
Figura 5 – Óleo de açaí extraído pela metodologia de Bligh e Dyer (1959))U
Figura 6 – Curvas de TG e DTG do óleo de açaí – de – touceira (E. oleracea Mart.)	56
Figura 7 – Resultado da Análise por espectroscopia em infravermelho com transformada o	de
Fourier - FTIR do óleo de açaí – de – touceira (<i>Euterpe oleracea</i> Mart.)	58
Figura 8 - Formulação da nanoemulsão elaborada a partir do óleo de açaí (<i>E. oleracea</i> Mart.) apo	ဂ်င
24 h	3 5
Figura 9 – Gráfico referente ao tamanho de partícula da nanoemulsão de óleo de açái em relaçã	ăo
a intensidade da réplica 1	
r	
Figura 10 - Gráfico referente ao potencial zeta da nanoemulsão de óleo de açaí em relação	a
intensidade da réplica 1	58
Figura 11 – Micrografias da nanoemulsão de óleo de açaí (E. oleracea Mart.) por Microscop	
Eletrônica de Transmissão (MET)	59
Figura 12 – Micrografias da nanoemulsão de óleo de açaí (E. oleracea Mart.) por Microscop	ia
Eletrônica de Transmissão (MET)	70

LISTA DE TABELAS

$\textbf{Tabela 1-} \textbf{Classifica} \\ \textbf{\'e} \ \textbf{odos} \ \textbf{sistemas} \ \textbf{coloidais} \ \textbf{baseada} \ \textbf{no} \ \textbf{tamanho} \ \textbf{de} \ \textbf{part\'eulas} \ \textbf{e} \ \textbf{na} \ \textbf{estabilidade}$
termodinâmica
Tabela 2 – Resultados da caracterização físico-químicas do óleo de açaí – de – touceira (E.
oleracea Mart.)51
Tabela 3 – Resultado do perfil dos ácidos graxos do óleo de açaí – de – touceira (E. oleracea
Mart.) por cromatografia a gasosa acoplada à espectrofotômetro de massa
Tabela 4 - Resultados da atividade antioxidante e poder redutor do óleo de açaí – de – touceira (<i>E</i> .
oleracea Mart.) pelos métodos de DPPH, ABTS, FRAP e Sistema β-caroteno/ácido
linoleico
Tabela 5 - Resultado das análises microbiológicas do óleo de açaí (<i>E. oleracea</i> Mart.), como contagem de coliformes, mesófilos e de fungos filamentoso e leveduras
Tabela 6 - Composição da nanoemulsão elaborada a partir do óleo de açaí – de – touceira (E.
oleracea Mart.)63
Tabela 7 – Resultados das características físico-químicas da nanoemulsão elaborada a partir do de
óleo de açaí (E. oleracea Mart.) por uso de ultrassom

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABTS - 2,2-azinobis 3-etilbenzenotiazolina-6-ácido sulfônico

APHA – American Public Health Association

 $APT-\acute{A}gua\ Peptonada\ Tamponada$

AT – Análise Térmica

CG – MS – Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de massa

DPPH - 2,2-difenil-1- picril-hdrazil

DRBC – Dchoran Rose Bengal Clorafenicol Agar

DTG – Derivada Termogravimétrica

ECF – Espectrometria de correlação de fótons

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

FRAP - Ferric Reducing Antioxidant Power

IA -Índice de Acidez

IAL – Instituto Adolfo Lutz

KOH – Hidróxido de Potássio

MET - Microscopia Eletrônica de Transmissão

MUFA – Ácido Graxo Monoinsaturado

PCA – Plate Count Agar (Ágar Padrão para Contagem)

PdI - Índice de Polidispersidade

PUFA – Ácido Graxo Poli-insaturado

TFD - Terapia Fotodinâmica

TG – Curva Termográfica

TGA - Análise Termogravimétrica

UTAL – Unidade de Tecnologia de Alimentos

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	18
1.1 OBJETIVO GERAL	21
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	22
2.1 AÇAÍ – DE – TOUCEIRA (Euterpe oleraceae Martius)	22
2.2 ÓLEO DE AÇAÍ (E. oleraceae Martius)	23
2.3 ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS E BIOLÓGICOS PARA CARACTERIZA	ÇÃO DO
ÓLEO DE AÇAÍ	24
2.3.1 Índice de acidez	25
2.3.2 Índice de saponificação	26
2.3.3 Índice de iodo pelo método de Wijs adaptado para ciclohexano	26
2.3.4 Densidade e Índice de refração	27
2.3.5 Análise por termogravimetria	27
2.4 NANOEMULSÕES	28
2.4.1 Nanoemulsões assistida por ultrassom	31
2.5 MÉTODOS DE CARACTERIZAÇÃO DAS NANOEMULSÕES	32
2.5.1 Tamanho da partícula e Índice de Polidispersidade	32
2.5.2 Potencial Zeta	33
3 MATERIAIS E MÉTODOS	35
3.1 AMOSTRA	35
3.2 EXTRAÇÃO DE ÓLEO DE AÇAÍ	36
3.3 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO ÓLEO DE AÇAÍ	37
3.3.1 Determinação do Índice de Acidez	37
3.3.2 Determinação de Índice de Peróxidos	37
3.3.3 Determinação do índice de saponificação	38
3.3.4 Determinação do índice de iodo pelo método de Wijs adaptado	39
3.3.5 Determinação de Densidade	40
3.3.6 Determinação de Índice de refração	40
3.4 PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DO ÓLEO DE AÇAÍ POR CROMATOC	RAFIA A
GÁS	41
3.4.1 Derivatização do óleo de açaí	41
3.4.2 Preparo das amostras	41

3.4.3 Análise da composição em ácidos graxos por cromatografia gasosa	42
3.5 ANÁLISE TÉRMICA DO ÓLEO DE AÇAÍ	42
3.6 ESPECTROMETRIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO DO ÓLEO DE A	AÇAÍ –
DE – TOUÇEIRA (Euterpe oleracea Mart.)	43
3.7 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO ÓLEO DE AÇAÍ	43
3.7.1 Método de sequestro do radical livre DPPH•	43
3.7.2 Método de captura do radical livre ABTS	44
3.7.3 Método de redução do ferro (FRAP)	45
3.7.4 Determinação de β-caroteno/ácido linoleico	46
3.8 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS DO ÓLEO DE AÇAÍ	47
3.8.1 Determinação de presença de microrganismos mesófilos	47
3.8.2 Determinação de presença de fungos filamentosos e leveduras	47
3.8.3 Determinação de presença de coliformes	47
3.9 OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA NANOEMULSÃO DE ÓLEO DE A	ĄÇAÍ −
DE - TOUCEIRA	48
3.9.1 Preparação da nanoemulsão de óleo de açaí	48
3.9.2 Caracterização físico-química da emulsão	48
3.9.3 Morfologia da nanoemulsão de óleo de açaí – de – touceira (<i>Euterpe ole</i>	raceae
Mart.)	
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES	50
4.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO ÓLEO DE AÇAÍ – DE – TOU	CEIRA
(Euterpe oleracea Mart.)	50
4.2 PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DO ÓLEO DE AÇAÍ – DE – TOUCEIRA (<i>I</i>	_
oleracea Mart.)	
4.3 ESTABILIDADE TÉRMICA DO ÓLEO DE AÇAÍ – DE – TOUCEIRA (A	_
oleracea Mart.)	
4.4 ESPECTROMETRIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO DO ÓLEO DE A	_
DE - TOUCEIRA	
4.5 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO ÓLEO DE AÇAÍ – DE – TOUCEIRA (<i>I</i>	-
oleracea Mart.)	
4.6 CONTROLE DE QUALIDADE MICROBIOLÓGICO DO ÓLEO DE AÇAÍ	
4.7 PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA NANOEMULSÃO DE ÓLEO DE	_
– DE – TOUCEIRA (Euterpe oleracea Mart.)	
4.7.1 Desenvolvimento da formulação da nanoemulsão	
4.7.2 Avaliação da estabilidade físico-química da nanoemulsão	65

4.7.3 Morfologia da nanoemulsão	69
5 CONCLUSÃO	71
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	72
ANEXO A - Rótulo da exsicata da palmeira de <i>Euterpe oleraceae</i> Mart. do Parque	Zoobotânico
da UFAC	85
ANEXO B – Artigo publicado na Revista DELOS (Desarrollo Local Sostenible)	86
ANEXO C – Participação em Eventos	100

1 INTRODUÇÃO

O uso das plantas, em diversas atividades do ser humano, acompanha a história da humanidade. As sociedades primitivas utilizavam espécies vegetais para a alimentação, porém, ao longo do tempo, outras finalidades contribuíram para ampliar o conhecimento e a utilização destes recursos (MATOS *et al.*, 2021). A flora da Amazônia possui enorme diversidade e endemismo e abriga populações humanas que mantêm forte interação com o seu ambiente (COSTA; NADAL; DA ROCHA, 2020).

Estudos na Amazônia tem o potencial para fortalecer, e com isso salvaguardar, conhecimentos e práticas diante das atuais transformações socioeconômicas e culturais pelas quais a região vem passando, e como resultado, podem apontar quadros conceituais mais elaborados acerca de meios apropriados de gestão integrada destes ecossistemas, para as atuais e futuras gerações (CICHOSKI; CORONA; DE MELLO, 2022).

Muitos estudos com plantas, ricas em compostos bioativos encontradas na Amazônia têm sido realizado e colaboram para com o desenvolvimento sustentável local, dentre estas o açaí (*Euterpe oleracea* Martius) merece destaque, uma vez que o açaizeiro é fonte de matéria-prima para produtos alimentares, destacando o seu fruto (BARBOSA; DE CARVALHO JUNIOR, 2022).

A partir deste fruto é extraído o "vinho" de açaí, muito apreciado pela população amazônica e, consumido com adição de açúcar e farinha de mandioca ou tapioca, ou ainda com camarão ou peixe salgado, hábito muito comum entre os paraenses (CASTRO, 2016). De acordo com a legislação brasileira, o açaí é o produto extraído da parte comestível dos frutos do açaizeiro após amolecimento dos frutos e uso de processos tecnológicos, por meios mecânicos e sem filtração (BRASIL, 2000).

A polpa do açaí é uma emulsão obtida pelo processamento dos frutos das palmeiras do gênero *Euterpe*, onde estão três espécies são de interesse comercial: *E. oleracea*, *E. precatoria* e *E. edulis*, nativas do Brasil, as duas primeiras são amazônicas e a última da Mata Atlântica. O açaí apresenta elevado teor de lipídios e antocianinas, e o seu consumo redunda em inúmeros benefícios devido ao seu efeito antioxidante, antienvelhecimento e anti-inflamatório. Ao açaí e seus derivados é atribuído o efeito inibidor de células cancerosas de mama, colo de útero e pulmão (BAPTISTA, 2020; SILVA; SEVALHO; MIRANDA, 2021; DA SILVA *et al.*, 2023).

O Brasil é o principal produtor, consumidor e exportador do açaí. Esse fruto é comercializado e consumido pela população local nas regiões produtoras do Amazonas, Pará, Maranhão, Amapá, Acre e Rondônia. Dentre os maiores produtores de açaí, destacam-se o Pará e Amazonas, responsáveis por cerca de 90% da produção nacional, e destes 10% são exportados para os Estados Unidos e Japão (GALATE, 2012; MATOS *et al.*, 2017).

O açaí apresenta diversos nutrientes interessantes como alta concentração de lipídeos aproximadamente 40,75%, carboidrato 42,5%±3,56, proteínas 9,13%±0,63 em 100 gramas de açaí liofilizado, também possui vitaminas e minerais como cálcio, ferro, magnésio e potássio. Da polpa do açaí extrai-se o óleo fixo de açaí, também rico em polifenóis, com sua propriedade antioxidante, anti-inflamatória e anti-proliferativa. O óleo é extraído da polpa e também da semente, é composto de ácidos graxos essenciais com potencial uso nas formulações farmacêuticas e cosméticas. O óleo de açaí é rico em ácido graxos monoinsaturados (MUFA) e poli-insaturados (PUFA), sendo os majoritários o ácido linoleico, oleico e palmítico, demonstrando interessante para aplicação nutracêutica (YAMAGUCHI et al., 2015; MATOS et al., 2017; MACIEL-SILVA et al., 2021; MELO et al., 2021).

Os óleos vegetais podem ser utilizados no desenvolvimento de sistemas de liberação de produtos nanoestruturados, e são destaque nas literaturas especializadas (DELSHADI *et al.*, 2020; MASIERO *et al.*, 2021). O desenvolvimento de sistemas nanoestruturados, como as nanoemulsões, as nanocápsulas, nanopartículas e cristais líquidos, permite o aumento da eficiência de produtos utilizados na terapêutica atual, a reintrodução de outros anteriormente descartados por suas propriedades indesejáveis e o aprimoramento de novos fármacos antes que sejam utilizados na terapêutica (LUIZ *et al.*, 2021; DINI, 2022). Isso, porque esses sistemas podem promover alterações nas características de solubilidade do fármaco, diminuição dos efeitos adversos e/ou colaterais, aumento da eficácia terapêutica, proteção do fármaco frente a fatores de degradação, tais como a luz e o calor, entre outras aplicações (ARREDONDO-OCHOA; SILVA-MARTÍNEZ, 2022; SHARMA *et al.*, 2023).

As nanoemulsões têm recebido grande atenção nos últimos anos como sistemas de entrega direcionada de medicamentos e são promissoras devido às suas características únicas, com aplicações nas indústrias de alimentos e cosméticos. Nanoemulsões são

dispersões coloidais compostas por dois líquidos imiscíveis, sendo que um está disperso no outro. Em gotas de tamanho nanométrico, as dispersões coloidais multifásicas são opticamente transparentes, com tamanhos variando de 50 nm a 200 nm, enquanto tamanhos de até 500 nm apresentam aparência leitosa (SHETH *et al.*, 2020; MAIA FILHO *et al.*, 2023).

A aplicação da biotecnologia industrial nos processos de produção tem sido considerada marcante na mudança de métodos tradicionais e no desenvolvimento de novos produtos. Tornando-os mais competitivos, além de reduzir os impactos ambientais, substituindo a utilização de matérias-primas fósseis por outras, tendo como base materiais biológicos ou renováveis, que também auxiliam na diminuição da utilização energética e de resíduos. Vem ganhando importância e enfoque por causa das suas vantagens competitivas, além de tornar-se um apoio à P&D, às políticas governamentais, à agricultura, à comercialização de produtos, impostos e a preparação da sociedade para o futuro (OLIVEIRA, 2023).

1.1 **OBJETIVO GERAL**

Desenvolver nanoemulsão de óleo de açaí – de - touceira (*Euterpe oleracea* Mart.) do tipo óleo em água.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Caracterizar a fração lipofílica obtida de frutos de *E. oleracea* Mart.;

Determinar a atividade antioxidante e as propriedades físico-químicas do óleo de *E. oleracea* Mart.;

Analisar o perfil de ácidos graxos do óleo de açaí por Cromatografia a Gás por Espectrometria de Massa (CG/MS);

Preparar nanoemulsão de óleo de açaí pelo método de alta energia;

Caracterizar a nanoemulsão à base de óleo de açaí quanto ao aspecto macroscópico, diâmetro hidrodinâmico, índice de polidispersão e carga de superfície.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 AÇAÍ – DE – TOUCEIRA (*Euterpe oleracea* Mart.)

O açaizeiro (*Euterpe oleracea* Mart.) é uma espécie monocotiledônea pertencente à família Arecaceae, sendo considerada a espécie mais importante do gênero *Euterpe*, dentre as dez registradas no Brasil (CONAB, 2019). Dentro dessa família, o gênero *Euterpe* reúne a cerca de 28 espécies e está distribuído pela América Central e do Sul e por toda bacia Amazônica. A *E. oleracea*, junto com a *E. precatoria* e *E. edulis* são as espécies que ocorrem com maior frequência no Brasil, as duas primeiras são da amazônicas e a última da Mata Atlântica e, são importantes do ponto de vista agroindustrial (COUTINHO, 2017; VIANNA, 2020; FRANCISCONI *et al.*, 2022).

Em se tratando de distribuição, o açaizeiro ocorre espontaneamente nos estados brasileiros do Amazonas, Pará, Maranhão, Amapá, Mata Atlântica e Tocantins. Fora do Brasil pode ser encontrado na Guiana, Guiana Francesa, Suriname e Venezuela. Entretanto, as maiores áreas ocupadas por essa espécie ocorrem na Amazônia oriental brasileira, mais precisamente no estuário do Rio Amazonas. *E. oleracea* é conhecido popularmente em diferentes locais da região amazônica como: açaí-do-Pará, açaí-do-Baixo Amazonas, açaí-de-touceira, açaí-de-planta e açaí-verdadeiro. A palavra "açaí" vem do tupi (yá-çaí), que significa "fruto que chora" (TAVARES, 2020; OLIVEIRA, 2023).

As plantas adultas da *E. oleracea* possuem estipes de 3 a 20 m de altura e 7 a 18 cm de diâmetro e possuem cicatrizes formadas pela queda das folhas; folhas pinadas com arranjo espiralado de 40 a 80 pares de folíolos; inflorescência do tipo cacho com flores estaminadas, pistiladas e ordenada em tríades, onde cada flor feminina fica ladeada por duas flores masculinas; o fruto é uma drupa globosa, de 1 a 2 cm de diâmetro e peso médio de 1,5 g; epicarpo roxo ou verde na maturação, dependendo do tipo; mesocarpo polposo que envolve o endocarpo volumoso e duro; e sistema radicular do tipo fasciculado, com raízes emergindo da estipe da planta adulta até 40 cm acima da superfície do solo (AGUIAR, 2016; NÉRIS, 2023).

2.2 ÓLEO DE AÇAÍ (E. oleracea Mart.)

O açaí vem despertando grande interesse nas pesquisas científicas, devido suas características antioxidantes, anti-inflamatórias e anticancerígena. Em pesquisas *in vitro* e da sua composição fitoquímica, possuem várias substâncias que podem ser empregadas em diferentes indústrias, além das de alimentos, cosmético, medicamentos (HEINRICH; DHANJI; CASSELMAN, 2011; YAMAGUCHI *et al.*, 2015; MELO *et al.*, 2021; LAURINDO *et al.*, 2023; FILHO *et al.*, 2023).

Oliveira *et al.* (2019) descreve o alto valor nutricional e energético da polpa de *E. oleracea*, apresentando interessante composição química de macronutrientes, constituída principalmente de lipídios 49,14%, proteínas 9,19%, fibra bruta total 20,29% e total açúcares 2,71%. Na pesquisa de Lucas *et al.* (2018) confirmam que o componente majoritário na polpa de açaí são os lipídeos com 53,31 %, merecendo destaque como fonte de carboidratos com cerca de 31,82 % e 10,67 % de proteínas. Em estudo Silva *et al.* (2020), encontraram na polpa do açaí uma constituição de 42,79% de lipídeos, 43,64% de carboidratos e 10,54% de proteínas.

Na fração lipídica as substâncias majoritárias são os ácidos graxos insaturados, pode-se citar o ácido graxo oleico e palmitoleico, também se observa a presença de ácidos graxos saturados, como o palmítico. É possível verificar quantidades inferiores de ácidos graxos mono e poli-insaturados (MANTOVANI *et al.*, 2003; BIERMANN *et al.*, 2021; KAZAZ *et al.*, 2022). O ácido oleico é um ácido graxo monoinsaturado (C18:1) e possui como propriedades biológicas o efeito anti-inflamatório, hipocolesterolêmico e prevenção de doenças cardiovasculares (SALES-CAMPOS *et al.*, 2013; ROTONDO *et al.*, 2020).

A composição química do açaí apresenta um elevado valor energético por conter alto teor de lipídios, como os ácidos graxos monoinsaturados e poli-insaturados. Há uma predominância de 71,17% de ácidos graxos insaturados, dentre os ácidos graxos insaturados tem-se 52,54% de ácido oleico seguido de ácido linoleico (9,72%), os ácidos graxos saturados principais são ácidos palmíticos (25,93%) e o ácido esteárico (1,86%), totalizando cerca de 28,06% de ácidos graxos saturados e, devido a essas concentrações desses compostos, o óleo da polpa de açaí pode ser comparado aos óleos de azeite e abacate (SANTO *et al.*, 2010; SILVA, 2021).

Os perfis de ácidos graxos do óleo de polpa de açaí liofilizado obtido por CO₂ sob diferentes condições operacionais mostraram que o ácido graxo monoinsaturado (MUFA) foi maior que os ácidos graxos poli-insaturados (PUFA). O principal MUFA foi o ácido oleico (C18:1) com maior concentração (65,81%). Já o PUFA linoleico (C18:2) foi encontrado na concentração de 15,54%. Apenas vestígios de ácido linolênico (C18:3) foram encontrados em todas as condições experimentais (BATISTA *et al.*, 2016).

No estudo de Silva *et al.* (2019), avaliou o perfil de ácidos graxos do óleo de *E. oleracea* de municípios do estado do Pará, Brasil, onde apresentou o maior teor de ácido oleico foi encontrado no óleo de Saracá/PA, com maior valor de 64,19%; o menor teor foi encontrado em Chaves/PA (61,65%). O maior teor de ácido linoleico foi encontrado no óleo de açaí de Chaves/PA para todas as condições de operação com valor superior de 12,31%; o menor teor foi encontrado no Saracá/PA (9,45%). O maior teor de ácido palmítico (21,79%) foi encontrado no óleo de Saracá/PA e o menor (21,15%) de Chaves/PA, mostrando que não houve diferença significativa no ácido palmítico conteúdo para todas as localidades e condições operacionais estudadas.

Os ensaios feitos por Nascimento *et al.* (2008) apontam que as proporções de ácidos graxos estão atreladas à forma de extração do óleo. A extração do óleo por via enzimática, resultou em 71% de ácidos graxos insaturados, 60,81% de monoinsaturados e 10,36% de poli-insaturados, enquanto a extração com resultou em 68% de ácidos graxos insaturados, 60,33% de monoinsaturados, 7,83% de poli-insaturados, e 3,54% dos ácidos não foram identificados.

Portanto, o açaí como alimento funcional possui efeito antioxidante representado principalmente pelas antocianinas, efeito energético pela fração lipídica, além de benefícios representados por outros componentes nutricionais. E além disso, apresenta efeitos benéficos a saúde (LAURINDO *et al.*, 2023).

2.3 ENSAIOS FÍSICO-QUÍMICOS E BIOLÓGICOS PARA CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO DE AÇAÍ – DE – TOUCEIRA (*Euterpe oleracea* Mart.)

As análises físico-químicas são importantes pois demonstram que o produto analisado se apresenta dentro dos padrões legais, evitando assim fraudes e/ou adulterações nas amostras. Nos óleos e gorduras as análises realizadas são determinadas pelos

chamados índices, que informam as propriedades físicas ou químicas do produto analisado. Quando for necessário a quantificação de constituintes pode-se utilizar a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/MS).

Segundo Instituto Adolfo Lutz (2008) as determinações feitas na análise de óleos e gorduras são expressões de suas propriedades, tanto física quanto químicas, sendo determinado índices de iodo, saponificação, peróxido, acidez e constantes físicas como o índice de refração e densidade. Todas essas análises servem como parâmetros de identificação e avaliação da maioria dos óleos e gorduras.

2.3.1 Índice de acidez

Um dos mais importantes parâmetros para avaliar a qualidade de um óleo vegetal é o índice de acidez (IA), pois reflete o grau de rancidez hidrofílica resultante da deterioração dos triacilgliceróis, desta maneira aumenta os ácidos graxos livres proporcionando mudanças sensoriais no óleo como alteração na cor e odor e também nos produtos derivados a partir deste óleo (NEDHI, 2013; MACIAN *et al.*, 2021).

A determinação do índice de acidez é essencial no parâmetro de qualidade de óleos vegetais, visto que ele indica o grau de pureza e o estado de deterioração do óleo, também conhecido como rancidez hidrolítica. O índice de acidez é o número de mg de KOH requerido para neutralizar ácidos graxos livres em 1g de amostra. Os triglicerídeos presentes na estrutura do óleo sofrem uma reação de hidrólise (reação inversa a esterificação), fazendo com que as cadeias de ésteres sofram quebras, liberando ácidos graxos livres e álcool (IAL, 2008; SANTOS, 2021).

Esta determinação fornece um dado importante na avaliação do estado de conservação do óleo, desta forma é possível verificar a decomposição, seja por hidrólise, oxidação ou fermentação, manifestando alteração na concentração dos íons hidrogênio, sendo acelerada por aquecimento e pela luz. São frequentemente expressos em termos de índice de acidez, podendo sê-lo também em mL de solução normal por cento ou em g do componente do ácido principal, geralmente o ácido oleico (MACARTHUR; TEYE; DARKWA, 2021)

O índice de acidez mostra como o número de mg de hidróxido de potássio necessário para neutralizar um grama da amostra. Este método pode ser aplicado a óleos

brutos e refinados, vegetais e animais e gorduras animais. Os métodos que avaliam a acidez titulável resumem-se em titular, com soluções de álcali-padrão, a acidez do produto ou soluções aquosas/alcoólicas do produto, assim como os ácidos graxos obtidos dos lipídios (BAIG *et al.*, 2022).

Segundo a Anvisa (2010) os índices elevados de acidez indicam hidrólise acentuada dos ésteres constituintes da matéria graxa. Os ácidos graxos provenientes das quebras nas cadeias de ésteres reagirão com a base durante a titulação para a determinação do índice de acidez. A concentração dos íons hidrogênio se alteram quase sempre por processos de decomposição, seja ele por hidrólise, oxidação ou fermentação, sendo a atividade bacteriana, ação catalítica como luz e calor, umidade e tratamentos químicos do processo de extração fatores que levam a esses processos (DUDI *et al.*, 2021).

2.3.2 Índice de saponificação

O índice de saponificação de óleos e gorduras é o número de mg de KOH necessário para saponificar um grama de amostra. Ou seja, esse índice identifica a quantidade de base necessária para saponificar o conteúdo lipídico da amostra. A base adicionada irá reagir com os triglicerídeos presentes no óleo através de uma hidrólise básica, ou reação de saponificação. E diferente do índice de acidez, nesse caso, existe a influência da temperatura na reação (IAL, 2008).

É um indicativo do tamanho relativo das cadeias hidrocarbônicas dos ácidos graxos existentes no sistema, de forma que quanto maior o índice de saponificação menor o tamanho da cadeia, logo, o peso molecular do ácido graxo. É expresso em miligramas de hidróxido de potássio (KOH) por grama de amostra (IAL, 2008).

2.3.3 Índice de iodo pelo método de Wijs adaptado para ciclohexano

O índice de iodo de um óleo ou gordura é a medida para verificar o grau de insaturação e é expresso em termos do número de centigramas de iodo absorvido por g da amostra (% iodo absorvido). O método de Wijs é aplicável a todos os óleos e gorduras normais que não contenham ligações duplas conjugadas. Cada óleo possui um intervalo

característico do valor do índice de iodo. A fixação do iodo ou de outros halogênios se dá nas ligações etilênicas dos ácidos graxos (IAL, 2008).

2.3.4 Densidade e Índice de refração

Este método determina a razão da massa da amostra em relação à da água por unidade de volume a 24°C e é aplicável a todos os óleos e gorduras líquidas. O índice de refração está relacionado com o grau de saturação das ligações, mas é afetado por outros fatores tais como: teor de ácidos graxos livres, oxidação e tratamento térmico (IAL, 2008).

2.3.5 Análise por Termogravimetria

As curvas termogravimétricas (TG), acordo com a nomenclatura publicada pela ICTAC -International Confederation for Thermal Analysis and Calorimetry (2014): "Análise Térmica (TA) é o estudo da relação entre uma propriedade da amostra e sua temperatura, à medida que amostra é aquecida ou resfriada de maneira controlada." A Análise Termogravimétrica (TGA) é uma técnica analítica que permite traçar a curva de perda de massa em função do tempo ou temperatura (curva TG), bem como analisar a relação entre massa e temperatura (curva DTG), sob atmosfera inerte (por exemplo nitrogênio) ou oxidante (oxigênio ou ar). De acordo com Rambo et al. (2015), a derivada termogravimétrica (DTG) apresenta as informações mais acentuadas e melhora a resolução do termograma, facilitando a interpretação dos resultados das análises termogravimétricas (LEVER et al., 2014).

As técnicas termoanalíticas se definem como sendo métodos que se determina a variação de uma determinada propriedade física de uma amostra em função do tempo ou da temperatura. Como um caso particular, a análise termogravimétrica (TGA) acompanha a variação da propriedade física "massa", de uma amostra em função do tempo com a temperatura constante, ou em função da temperatura. A TGA permite identificar as variações de massa que ocorrem no material devido à volatização de componentes, decomposição, reação de oxidação e redução, entre outros processos. Por outro lado, termogravimetria derivada (DTG), é o arranjo matemático, no qual a derivada da variação de massa em relação ao tempo (dm/dt) é registrada em função da temperatura ou tempo.

O aparelho utilizado para essa técnica é chamado de Termobalança (BLÁZQUEZ *et al.*, 2019; POSTAWA *et al.*, 2022).

Umas das principais aplicações da análise TGA e DTG são para auxiliar pesquisadores no entendimento dos constituintes de materiais adsorventes tendo como base materiais orgânicos. Entender as mudanças térmicas desses compostos, assim como limites de temperatura aos quais os materiais podem ser submetidos faz-se necessário para que esses compostos sejam aquecidos sem que propriedades importantes sejam perdidas (POSTAWA *et al.*, 2022).

2.4 NANOEMULSÕES

A nanociência e as suas aplicações técnicas são atualmente amplamente consideradas como tendo um enorme potencial para numerosos projetos e aplicações de investigação, incluindo os das indústrias alimentar e farmacêutica e agrícola. A nanotecnologia tem sido acompanhada por uma série de grandes conquistas, é a ciência e a tecnologia de criação de nanopartículas, e a sua aplicação atravessa todos os campos da ciência e está a ser utilizada numa vasta gama de produtos em diversas indústrias, que inclui a alimentar, indústria farmacêutica de cuidados, cuidados e cosméticos (CUNHA et al., 2023; BAMISAYE et al., 2023).

As suspensões coloidais consistem em pequenas gotículas lipídicas dispersas em uma fase aquosa e são largamente utilizados no setor alimentício para encapsular componentes lipofílicos funcionais. Os três sistemas mais utilizados são as emulsões, as nanoemulsões e as microemulsões, sendo que suas principais diferenças são o tamanho do diâmetro das gotas e a estabilidade termodinâmica (RAO; McCLEMENTS, 2011; MORAES-LOVISON, 2017) (Tabela 1).

Tabela 1 - Classificação dos sistemas coloidais baseada no tamanho das partículas e na estabilidade termodinâmica.

Faixa de diâmetro da	Estabilidade
gota (nm)	termodinâmica
> 200	Metaestável
< 200	Metaestável
< 100	Estável
	gota (nm) > 200 < 200

Fonte: Moraes-Lovison (2017).

As nanoemulsões são definidas como sistemas heterogêneos, como demonstrado na figura 1, nos quais um líquido (a fase interna) é disperso em outro (a fase externa) na forma de gotículas de tamanho nanométrico, na presença de um agente emulsionante. Podem ter várias aplicações, tendo sucesso como veículo de fármacos de administração oral, tópica, oftálmica e parenteral. A emulsão pode ser classificada em: óleo em água (O/A), quando o óleo constitui o meio interno e a água o externo ou água em óleo (A/O) caracterizada como uma emulsão água em óleo (JAISWAL; DUDHE; SHARMA, 2015; SADEQ, 2020; BANASAZ *et al.*, 2020).

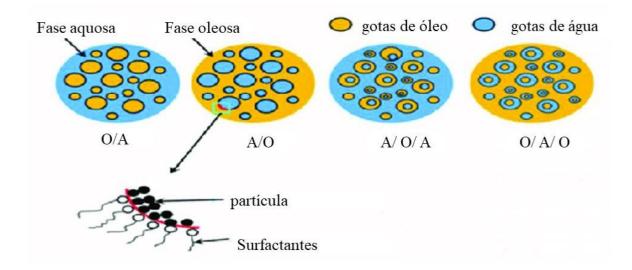


Figura 1 - Tipos de Nanoemulsão. Fonte: Adaptado de Sadeq (2020).

Para Aboofazeli (2010), as nanoemulsões são conhecidas também como miniemulsões, emulsões submicrométricas, emulsões ultrafinas, emulsões de dispersão fina e assim por diante. São um grupo de partículas dispersas usadas como veículos para fins farmacêuticos e parecem ser promissoras para o futuro da cosmética, diagnóstico, terapias medicamentosas e biotecnologias. Devido às semelhanças entre microemulsões e nanoemulsões, diversas definições têm sido propostas na literatura, em relação às nanoemulsões (SHETH et al., 2020; SOUTO et al., 2022; MUSHTAQ et al., 2023).

Nanoemulsões são emulsões fora de equilíbrio com um notável tamanho de gota pequeno na faixa de 20-200 nm, independentemente do método de preparação. Os sistemas transparentes ou translúcidos contendo gotículas com diâmetro médio na faixa entre 100-500 nm e, diferentemente das microemulsões termodinamicamente estáveis, são cineticamente estáveis. Apresentam dispersões isotrópicas e termodinamicamente estáveis que consistem em óleo, surfactantes, co-surfactantes e fase aquosa, geralmente com diâmetro de gotícula na faixa de 10-100 nm (TARHAN, SPOTTI, 2021; MARIYATE; BERA, 2022).

Hyacienth (2017) desenvolveu nanoemulsões do tipo óleo em água a partir dos frutos de açaí. As nanoemulsões foram preparadas usando diferentes métodos, solvente orgânico ou métodos de aquecimento ou sem solvente orgânico / não aquecimento. Nanoemulsões óleo-em-água possuem sistemas coloidais isotrópicos compostos por gotículas de óleo dispersas em meio aquoso contínuo e estabilizadas por moléculas de surfactantes. O tamanho da partícula ou o diâmetro médio da gota normalmente fica na faixa de tamanho de 20–500 nm para ser qualificado como uma nanoemulsão (MANICKAM; SIVAKUMAR; PANG, 2020).

Com o objetivo de obter nanoemulsão óleo em água (O/A) a partir de óleo de açaí, tensoativo e água, por meio do método de temperatura de inversão de fase para uso tópico, Contente (2016) encontrou como resultados da nanoemulsão B10 com cetoconazol a 0,5% foram encontrados Potencial Zeta (-25,53 mV \pm 10,04), Índice de Polidispersidade (0,37 \pm 0,04) e tamanho (128,53 nm \pm 10,04), sendo que, no período de 30 dias a nanoemulsão apresentou pouca variação. Assim, o óleo de açaí tem potencial para ser empregado como insumo farmacêutico e usado como fase oleosa de nanoemulsões carreadoras de substâncias lipossolúveis.

2.4.1 Nanoemulsões assistida por ultrassom

O ultrassom de baixa frequência e alta potência, comumente referido como ultrassom de potência, ganhou interesse significativo na última década, pois possui uma ampla gama de utilizações em uma infinidade de setores, tornando-o uma tecnologia de processamento versátil, para a alteração, geração e modificação de microestruturas. Como consequência, devido à cavitação ultrassônica, é capaz de aumentar a área superficial específica em sistemas de emulsão para a geração de emulsões de tamanho nanométrico (O'SULLIVAN et al., 2017; THAKUR *et al.*, 2021).

O uso de ultrassom de baixa frequência para formação de emulsões está bem estabelecido, pelo menos em escala laboratorial. No entanto, a maior parte do trabalho até o momento tem se concentrado na preparação de emulsões sintéticas, por exemplo, para a indústria de tintas ou na preparação de nanopartículas poliméricas. O desenvolvimento de tais técnicas para a indústria alimentar é um fenómeno muito mais recente (THAKUR et al., 2021).

Acredita-se que a emulsificação ultrassônica ocorra através de dois mecanismos. Primeiramente, a aplicação de um campo acústico produz ondas interfaciais que se tornam instáveis, resultando eventualmente na erupção da fase oleosa no meio aquático na forma de gotículas. Em segundo lugar, a aplicação de ultrassom de baixa frequência provoca cavitação acústica, ou seja, a formação e posterior colapso de microbolhas pelas flutuações de pressão de uma simples onda sonora. Cada evento de colapso da bolha (uma implosão em escala microscópica) causa níveis extremos de turbulência altamente localizada. As microimplosões turbulentas atuam como um método muito eficaz de quebrar gotículas primárias de óleo disperso em gotículas de tamanho submícron (KENTISH *et al.*, 2008; CARPENTER; SAHARAN, 2017; DA SILVA, ROSARIO, CONTE-JUNIOR, 2023).

A obtenção de nanoemulsões assistida por ultrassom envolve mecanismos dinâmicos e complexos que produzem forças de cisalhamento, estresse mecânico, cavitação acústica (formação, crescimento e implosão de bolhas de gás/vapor) e efeitos químicos indiretos, análogos à radiação ionizante, dentro os quais a formação de espécies reativas, sobretudo em suspensões e dispersões aquosas. Todos esses fenômenos repercutem como efeitos adversos e de magnitudes variadas, as quais impactam de

forma muito particular e direta na estabilidade cinética do sistema, estabilidade química do composto retido na fase contínua e eficiência, por isso a importância de estudos que enfoquem nos métodos de preparo e variáveis operacionais envolvidas no processo, a fim de manter ou até mesmo potencializar a qualidade biológica do composto bioativo e estabilidade cinética do sistema coloidal para entrega controlada (KENTISH *et al.*, 2008; SHARMA *et al.*, 2022; MUSHTAQ *et al.*, 2023).

Quando a energia supera a tensão interfacial, os glóbulos são fragmentados em glóbulos menores, aumentando a quantidade de glóbulos por volume. Geralmente, a obtenção de nanoemulsões por métodos de alta energia compreende duas etapas: primeiro a deformação e fragmentação dos glóbulos macrométricos em glóbulos menores e segundo a adsorção de moléculas do tensoativo na interface dos novos glóbulos, garantindo a estabilização (AGOSTINHO, 2017).

Para Rao et al. (2021) a ultrasonicação é uma técnica de alta energia, rápida e eficiente, onde as gotículas são quebradas por ondas de alta frequência através de vibrações mecânicas e de cavitação, de modo que as gotículas se colapsam umas às outras, alcançando o tamanho de glóbulos menores, além de promover melhor uniformidade do tamanho de partícula e diminuição no tamanho das partículas.

2.5 MÉTODOS DE CARACTERIZAÇÃO DAS NANOEMULSÕES

A estabilidade de uma emulsão é de extrema importância nos vários procedimentos industriais e produtos emulsionados. A fim de caracterizar estes sistemas vários estudos são sugeridos na literatura como: a determinação do tamanho dos glóbulos da fase dispersa, além da carga de superfície (potencial Zeta) para avaliar a eficiência de encapsulação.

2.5.1 Tamanho da partícula e Índice de Polidispersidade

O Tamanho e o índice de polidispersidade (PdI) são analisados pela técnica da espectrometria de correlação de fótons (ECF). Seu mecanismo baseia-se no movimento browniano das gotículas em suspensão, onde gotículas menores apresentam movimentos rápidos e as maiores apresentam movimentos lentos. A técnica ECF mensura os

movimentos brownianos e relaciona estes movimentos ao tamanho das gotículas, reproduzindo gráfico onde a intensidade diferencial ou cumulativa são expressos em função do diâmetro da gotícula (SUHAIMI *et al.*, 2015; SHEYFER *et al.*, 2020).

Por sua vez, o índice de PdI é uma medida da distribuição do tamanho das gotículas. Quando o resultado está próximo de zero, significa que a população da amostra é mais homogênea, enquanto que resultados entre 0,1 e 0,2 indicam uma distribuição estreita, e índices acima de 0,5 demonstram uma distribuição muito ampla (HOSEINI *et al.*, 2023).

Esta técnica, por convenção, é formada por um laser monocromático em um comprimento de onda fixo como fonte de luz. O laser converge para a amostra, através de uma lente de focalização. A luz é espalhada em vários ângulos pelas gotículas presentes na amostra. Um detector analisa a luz espalhada e as flutuações de intensidade da luz espalhada e converte em pulsos elétricos, os quais são transmitidos em um dispositivo de correlação digital. Este suscita uma função de autocorrelação, a partir da qual se relaciona com coeficiente de difusão das gotículas, que, por sua vez, com o tamanho das gotículas (SANDY; ZHANG; LURIO, 2018; BALEGAMIRE *et al.*, 2020).

Assim, pode-se calcular o tamanho destas gotículas pela taxa de variação da intensidade da luz dispersa. Os sinais de intensidade detectados são utilizados para calcular uma função de autocorrelação, a partir da qual se obtém o coeficiente de difusão, o diâmetro esférico pode ser calculado aplicando-se a equação de Stokes - Einstein, que relaciona o coeficiente de difusão de uma partícula com seu diâmetro (r), Equação 1: $r = kT/3\pi\rho D$ (SANDY; ZHANG; LURIO, 2018)

2.5.2 Potencial Zeta

Assim como o tamanho da gotícula, o potencial Zeta (PZ) é indicativo da estabilidade de nanoemulsões, tendo em vista que gotículas com carga agregam-se menos durante a estocagem devido à repulsão eletrostática. Portanto, alterações desse valor podem corresponder a mudanças na constituição e características da amostra (CHOI *et al.*, 2011; LUANGAPAI; PEANPARKDEE; IWAMOTO, 2022).

O PZ reflete a carga da interface das gotículas dispersas em um campo elétrico carregado. Esta medida é a diferença de potencial existente entre a superfície de íons

fortemente ligados à superfície da gotícula e uma região neutra (não carregada) da solução, onde há uma diferença relevante da viscoelasticidade, quando comparada à solução adjacente aos glóbulos (SAID SULIMAN *et al.*, 2020). É importante um valor negativo ou positivo e elevado do PZ (25 mV ou maior, em valor absoluto). Isso significa que a força repulsiva da dupla camada é maior do que a força atrativa de London, evitando, desta maneira, uma possível floculação (CHANG *et al.*, 2020).

Uma excelente estabilização eletrostática é adquirida quando o PZ maior que +30 mV ou que -30 mV. As gotículas eletricamente carregadas, quando submetidas a um campo elétrico, movimentam-se na direção de um eletrodo de carga contrária. Visto que a velocidade de mobilidade é proporcional ao potencial da superfície da partícula, o PZ pode ser estimado a partir da medição da velocidade das partículas (RIBEIRO *et al.*, 2015; PIRES, MOURA, 2017).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

As análises físico-químicas foram realizadas nos diversos ambientes da Universidade Federal do Acre como: Laboratórios de Nanobiotecnologia do Complexo Bionorte – UFAC e Unidade de Tecnologia de Alimentos (UTAL) na UFAC onde foram disponibilizados reagentes e equipamentos necessários para a realização da pesquisa. Foram realizados alguns experimentos no laboratório da Superintendência da Polícia Federal no Estado do Acre com o uso de cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas e atividade antioxidante do óleo foram realizadas na Universidade Federal de Goiás (UFG) no Laboratório de Pesquisa em Química e Bioquímica de Alimentos. A microscopia eletrônica de transmissão (MET) foi realizada no Instituto Aggeu Magalhaes – Fiocruz, Pernambuco.

3.1 AMOSTRA

A polpa de açaí adquirida foi preparada com frutos maduros do açaí – de – touceira (*E. oleracea* Mart.) coletados em uma propriedade localizada no município de Rio Branco, na BR 364, Km 12, no Centro Espírita Beneficente União do Vegetal, próximo à entrada de acesso a EMBRAPA – AC conforme figura 2, localizado entre as coordenadas geográficas: 10°00'44" S; 67°42'25" O e altitude de 152 m. A identificação botânica foi confirmada de acordo com o rótulo de exsicata nº 28626 (Anexo I).

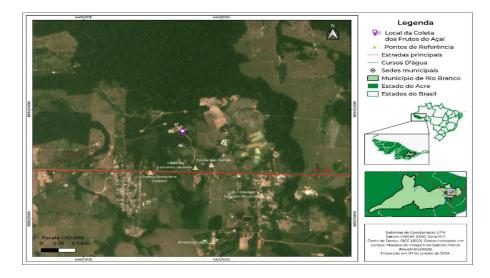


Figura 2 - Coordenadas geográficas do local de coleta da coleta do açaí (*E. oleraceae* Mart.) em Rio Branco, Acre.

3.2 EXTRAÇÃO DO ÓLEO DE AÇAÍ

O óleo foi extraído da polpa de açaí seguindo a metodologia de Bligh e Dyer (1959) com modificações (Figura 3). Foram pesadas 100 gramas da polpa descongelada, em seguida foram adicionados 400 mL de metanol P.A. marca Neon, 200 mL de clorofórmio P.A. marca Dinâmica e 160 mL de água destilada, colocado em agitação por 30 minutos, após este período foi desligado a agitação e adicionado mais 200 ml de clorofórmio e 200 mL de solução de sulfato de sódio anidro P.A. da marca Synth a 1,5%, colocado em agitação por mais 2 minutos.

Após este processo foi colocado em funil de separação com capacidade para 2000 mL e aguardando alguns minutos, após este período foi aberto para retirar a camada inferior onde está o clorofórmio, foi colocado em Becker de 500 mL, onde adicionou 7,5 gramas de sulfato de sódio anidro e foi agitado em seguida filtrado em funil com filtro de papel, após a solução ficar límpida, foi transferido para balão de vidro e colocado no rotaevaporador da marca Quimis em temperatura de 35°C até a completa evaporação dos solventes e obtenção do óleo fixo. Com rendimento de cerca de 10 gramas de óleo de açaí.

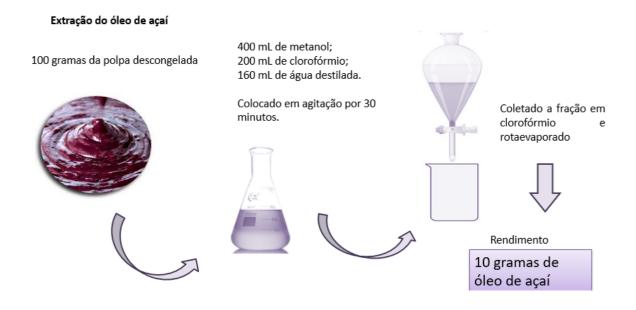


Figura 3 - Metodologia de extração do óleo de açaí por Bligh e Dyer (1959) modificado.

3.3 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO ÓLEO DE AÇAÍ

3.3.1 Determinação do Índice de Acidez

O índice de acidez (IA) do óleo de açaí foi determinado segundo o protocolo do Instituto Adolfo Lutz (2008). O procedimento consistiu em pesar 2 g da amostra em um frasco Erlenmeyer (125mL) e adicionada 25 mL de uma solução éter etílico P.A. da marca Neon:etanol etílico P.A. da marca Neon (1:1), previamente neutralizada com KOH 0,01 M. Em seguida foram adicionadas 2 gotas de fenolftaleína e a solução foi titulada com KOH 0,01 M, até coloração rósea, que permaneceu por aproximadamente 30 segundos o índice de acidez foi calculado com auxílio da Equação 1.

$$IA = \frac{v.f.5,61}{p}$$
 Eq. 1

Onde:

IA = índice de acidez

v = número de mL de solução de hidróxido de sódio 0,01 M gasto na titulação;

f = fator da solução de hidróxido de sódio;

p = número de g da amostra.

3.3.2 Determinação de Índice de Peróxidos

O índice de peróxido (IP) do óleo de açaí foi determinado segundo metodologia adaptada do Instituto Adolfo Lutz (2008). Para o ensaio, foram pesados 5 g do óleo de açaí em um Erlenmeyer de 125 mL, em seguida foi adicionado 30 mL da solução ácido acético glacial ACS da marca Merck — clorofórmio P.A. marca Dinâmica (3:2) e agitouse até a 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. Rapidamente acrescentou-se 30 mL de água destilada e titulou-se com solução de tiossulfato de sódio 0,01 N, com agitação constante, a titulação foi realizada até que a coloração amarela desapareça. Adicionou-se 0,5 mL de solução indicadora de amido (1%) e continuou-se a titulação até o completo desaparecimento da coloração azul. Uma prova em branco foi

realizada concomitantemente da mesma maneira descrita acima, porém sem a adição de 2 g do óleo. O procedimento foi realizado em triplicada. O valor do índice de peróxido foi medido segundo a Eq. 2:

$$IP = \frac{(A-B).N.f.1000}{p}$$
 E. 2

Onde:

IP= índice de peróxido

A = número de mL da solução de tiossulfato de sódio 0,01 N gasto na titulação da amostra;

B = número de mL da solução de tiossulfato de sódio 0,01 N gasto na titulação do branco;

N = normalidade da solução de tiossulfato de sódio;

f = fator da solução de tiossulfato de sódio;

p = número de g da amostra.

3.3.3 Determinação do índice de saponificação

Para a realização da determinação do índice de saponificação foi pesado 2 g do óleo de açaí em balança analítica em um Erlenmeyer de 250 mL, onde foi adicionado 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 P.A. da marca Neon 0,5 N até o 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 (IAL, 2008). O procedimento foi realizado em triplicata e o índice de saponificação foi calculado através da equação 3 abaixo:

Índice de saponificação de Koettstorfer
$$=\frac{V.f.28}{p}$$
 Eq. 3

Onde:

V = diferença entre os nº de mL do ácido clorídrico 0,5N gastos nas 3 titulações

f = fator do ácido clorídrico 0,5 N

P = número de g da amostra

3.3.4 Determinação do índice de iodo pelo método de Wijs adaptado para ciclohexano

O índice de iodo de um óleo ou gordura é a medida para verificar o grau de insaturação e é expresso em termos do número de centigramas de iodo absorvido por g da amostra (% iodo absorvido). O método de Wijs é aplicável a todos os óleos e gorduras normais que não contenham ligações duplas conjugadas. Cada óleo possui um intervalo característico do valor do índice de iodo. A fixação do iodo ou de outros halogênios se dá nas ligações etilênicas dos ácidos graxos (IAL, 2008).

Seguiu a metodologia do Instituto Adolfo Lutz (2008) adaptada para o uso de ciclohexano. Inicialmente foram pesadas 0,25 gramas da amostra, transferida para um Erlenmeyer de 500 mL, em seguida adicionou-se 20 mL da solução de Wijs, o frasco foi tampado e agitado para homogeneização e, deixado reservado no escuro por 25 minutos, após este tempo, adicionou-se 20 mL de iodeto de potássio e 100 mL de água destilada. Foi realizada a titulação com solução de tiossulfato de sódio 0,1 até a cor amarela quase desaparecer (coloração amarela fraca), adicionar 2 mL de amido 1%, continuar a titulação até o desaparecimento da cor azul. Foi preparada também a prova em branco sem adição de óleo. O procedimento foi realizado em triplicata. Para o cálculo do índice de iodo utilizou a Eq. 04.

II =
$$\frac{(B-A).f.1,27}{p}$$
 Eq. 04

Onde:

II = índice de iodo

B = número de mL da solução de tiossulfato de sódio 0,1N gasto na titulação do branco

A = número de mL da solução de tiossulfato de sódio 0,1N gasto na titulação da amostra

f = fator da solução de tiossulfato de sódio 0,1N

P = número de gramas da amostra

3.3.5 Determinação de Densidade

A densidade do óleo de açaí foi determinada conforme a metodologia proposta pela Farmacopeia Brasileira (2010), em temperatura ambiente de 24°C, através do método do picnômetro. O picnomêtro com capacidade de 5mL, previamente calibrado, limpo e seco. A quantidade de 5mL da amostra foi transferida para o picnomêtro, caso necessário foi retirado o excesso de amostra, e conferido a temperatura. A massa da amostra foi obtida através da diferença de massa do picnômetro cheio e vazio. A densidade relativa é igual a razão entre a massa da amostra líquida e a massa da água, ambas na mesma temperatura. A densidade foi calculada em triplicata e com auxílio da Eq. 5.

Densidade relativa a
$$24^{\circ}\text{C} = \frac{(A-B)}{C}$$
 Eq. 05

Onde:

A= refere-se à massa do picnômetro com óleo

B= é a massa do picnômetro vazio

C= é a massa da água à temperatura de 24°C.

3.3.6 Determinação de Índice de refração

O índice de refração está relacionado com o grau de saturação das ligações, mas é afetado por outros fatores tais como: teor de ácidos graxos livres, oxidação e tratamento térmico. Para a determinação do índice de refração utilizou-se o refratômetro de Abbé, marca Jena acoplado a um banho térmico (Thermo Haake) com temperatura controlada. A leitura foi feita na temperatura de 27,7°C, obedecendo o protocolo do Instituto Adolfo Lutz (2008).

3.4 PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DO ÓLEO DE AÇAÍ POR CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSA (CG – MS)

3.4.1 Derivatização do óleo de açaí

A composição de ácidos graxos foi determinada pela derivatização do óleo de açaí para converter os ácidos graxos em sais de ácidos graxos, seguindo a metodologia de Hartman e Lago (1973). Para o preparo da solução metanólica de hidróxido de potássio 0,5 M, foi pesado 2,805 g de KOH da marca Merck em béquer de 50 mL. Em seguida foi adicionado o álcool metílico em pequenas porções, a solução foi transferida para balão volumétrico de 100 mL. Completando o volume e agitar e guardar em frasco de polietileno. O reagente de metilação foi preparado com 2 g de cloreto de amônio, adicionando 60 mL de álcool metílico e 3 mL de ácido sulfúrico. Foi acoplado ao frasco condensador de bolas e mantido a mistura sob refluxo por 30 minutos. Após frio foi armazenado em frasco âmbar.

Para o preparo da solução saturada de cloreto de sódio, usou 38 g de cloreto de sódio da marca Merck, sendo transferido para o balão volumétrico de 100 mL e completado com água destilada, posteriormente, realizada agitação. A solução foi guardada em frasco de vidro na geladeira. A solução padrão de éster metílico de ácido graxo foi preparada com 10 mg de cada éster metílico padrão (C12:0, C14:0, C16:0, C16:1, C18:0, C18:1, C18:2, C18:3, C20:0, C20:4, C22:0 e C22;1), separadamente e solubilizada com 10 mL de hexano P.A. As soluções foram ser guardadas em frasco âmbar na geladeira.

3.4.2 Preparo da amostra

Em um tubo de ensaio com tampa rosqueável foi adicionado 5 a 10 gotas de óleo e posteriormente, adicionou 3 mL de solução de hidróxido de potássio da marca Merck e saponificado por 5 minutos em banho-maria fervente. Após frio, adicionou 5 a 7 mL do reagente de metilação, aquecendo por mais 5 minutos. Após, deixou esfriar e adicionou 8 mL de solução de cloreto de sódio, com auxílio de proveta. Os ésteres metílicos migram

para a camada superior e ser solubilizados pela adição de 1 mL de hexano. A solução foi transferida para vidro âmbar e acondicionada para as análises.

3.4.3 Análise da composição em ácidos graxos por Cromatografia Gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG – MS)

A análise citada na Figura 4 foi realizada em um cromatógrafo a gás acoplada à espectrometria de massas (CG-MS) da marca Agilent 7890, na Superintendência da Polícia Federal do Estado do Acre, sob as seguintes condições: coluna capilar (30 m x 0,25 mm; espessura do filme de 0,25 μm), gás hélio como fase móvel a uma velocidade linear de 96 mL/min, temperatura de injeção de 250 °C, temperatura do detector igual a 260 °C, volume de injeção igual a 1 μL, e razão *Split* de 1:20. A temperatura da coluna foi mantida a 50 °C durante 5 min após a injeção, e então, aumentada para 230 °C a uma taxa de 3 °C/min, mantida por 20 min. Os picos de ácidos graxos individuais foram identificados por comparação dos tempos de retenção com os de misturas conhecidas de padrão de ácidos graxos. Os resultados foram expressos em porcentagem relativa do total de ácidos graxos.

3.5 ANÁLISE TÉRMICA DO ÓLEO DE AÇAÍ

O óleo de açaí foi submetido as análises termoanalíticas TG (termogravimetria), DTA (análise térmica diferencial) como citado na Figura 4. A TG e a DTA foram realizadas simultaneamente em um analisador térmico NETZSCH modelo STA449 F3 em atmosfera de N₂ disponibilizado pelo Laboratório de Sínteses de Nanocompósitos no complexo da Rede Bionorte. As análises foram realizadas nas seguintes condições: foram pesado 20 mg da amostra em um cadinho de alumínio. As análises foram realizadas em atmosfera de nitrogênio (20 mL.min⁻¹) e razão de aquecimento de 10°C/min até a temperatura final de 600°C. Os cálculos de perda de massa e variação de entalpia foram realizados com auxílio do software Zetasizer.

3.6 ESPECTROMETRIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO DO ÓLEO DE AÇAÍ

A análises de espectroscopia de absorção na região do infravermelho do óleo de açaí foi realizada de acordo com o procedimento de Contente (2016) em um espectrofotômetro com transformador de Fourier (FTIR) utilizando discos de brometo de potássio (KBr) na região espectral na faixa de 4000 a 600 cm⁻¹ (Figura 4).

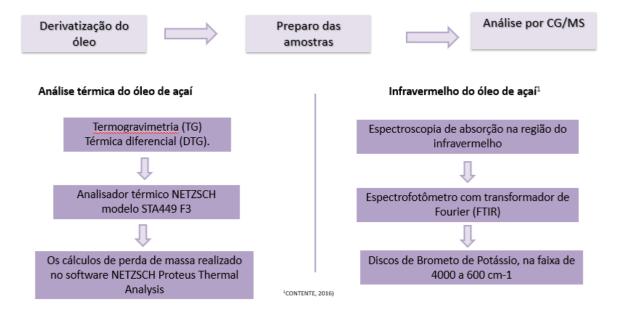


Figura 4 - Metodologia da análise do óleo de açaí por Cromatografia Gasosa acoplada a espectrometria de massa, Análise Térmica por Termogravimetria (TG) e Análise Térmica Diferencial (DTA) e Espectrometria na região do Infravermelho.

3.7 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO ÓLEO DE AÇAÍ

3.7.1 Método de sequestro do radical livre DPPH•

A atividade antioxidante do óleo de açaí ocorreu pelo sequestro do radical livre DPPH• (2,2-difenil-1-picril-hdrazil), determinada de acordo com os procedimentos de Kondo *et al.* (2002) e da Silva *et al.* (2018) com modificações. A amostra de óleo de açaí foi solubilizada em etanol absoluto da marca Neon nas concentrações de 8, 20, 40 e 80 mg.mL⁻¹. Para a comparação dos resultados foi utilizado trolox (Sigma) como padrão antioxidante. Foi preparada uma solução metanólica de DPPH (60 μM) com absorbância

inicial entre 0,6 e 0,7, a temperatura ambiente. A leitura das absorbâncias foi analisada a 517 nm em espectrofotômetro UV-visível (NOVA 3300UV).

As determinações foram realizadas pela adição de 1950 μL da solução de DPPH• e 50 μL da amostra do óleo, o mesmo procedimento foi realizado para o controle (etanol) e o padrão trolox, nas concentrações de 0,04; 0,08; 0,12; 0,16; 0,2 mg.mL⁻¹. A mistura reacional foi agitada, protegida da luz e oxigênio e a absorbância foi monitorada até o ponto final de cada reação, quando a absorbância estiver constante. A atividade de sequestro do radical DPPH• foi expressa por meio da porcentagem de inibição (%I), segundo a Eq. 06:

$$\%I = \frac{(Ac - Aam)}{Ac.100}$$
 Eq. 06

Onde:

Ac= absorbância do controle.

Aam = absorbância da amostra.

O valor de EC₅₀, ou seja, a concentração mínima da amostra que inibiu 50% do radical DPPH•, no meio reacional, foi obtido por regressão linear utilizando os valores de concentração da amostra *versus* porcentagem de inibição.

3.7.2 Método de captura do radical livre ABTS+

A atividade antioxidante do óleo de açaí através da captura do cátion radical ABTS+ (2,2-azinobis 3-etilbenzenotiazolina-6-ácido sulfônico) foi determinada conforme metodologia descrito por Rufino *et al.* (2006) e da Silva *et al.* (2018). A amostra foi comparada com o padrão trolox e os resultados expressos em termos da capacidade antioxidante do composto equivalente ao trolox, expresso em valor de TEAC (*Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*). A solução do cátion radical foi preparada pela reação do ABTS 3,5 mM com persulfato de potássio 140 mM. Para completa reação e estabilização do radical, a solução radical ABTS ocorreu ao abrigo de luz, à temperatura ambiente, por um período de 16 h. A solução de ABTS+ foi diluída em etanol até obter uma absorbância de 0,7 ± 0,05 a 734 nm.

A curva de calibração do padrão trolox foi feita nas concentrações de 100, 250, 500, 1000 μM. As concentrações utilizadas para construção da curva de calibração capacidade antioxidante do OEMS foram de 1000, 2000, 4000, 6000, 8000 e 10000 mg.mL⁻¹. Em ambiente escuro foi transferida uma alíquota de 30 μL de cada solução padrão, para tubos de ensaio e adicionado 3,0 mL do radical ABTS+. As absorbâncias foram medidas a 734 nm após 6 minutos da reação, e o etanol foi utilizado como branco. O mesmo procedimento foi realizado para a amostra do óleo de açaí. A atividade do óleo de açaí em capturar o cátion radical ABTS foi expressa em μM trolox.g⁻¹ de amostra (Z), obtida a partir das equações das retas das curvas concentração de trolox versus absorbância e concentração da amostra versus absorbância (RUFINO *et al.*, 2007).

3.7.3 Método de redução do ferro (FRAP)

A atividade antioxidante do óleo de açaí será determinada conforme metodologia descrito por Rufino *et al.* (2006) e da Silva *et al.* (2018). O reagente FRAP foi obtido a partir da combinação de 25 mL de tampão acetato 0,3 M, 2,5 mL de uma solução de TPTZ 10 mM (2,4,6-Tris(2-piridil)-triazina) e 2,5 mL de uma solução aquosa de cloreto férrico 20 mM, sendo usado imediatamente. Como padrão foi utilizado sulfato ferroso e a curva de calibração foi feita nas concentrações que de 250, 500, 1000, 1500 e 2000 μM. Para avaliação da capacidade antioxidante do óleo de açaí foram testadas diferentes concentrações da amostra (1000, 2000, 4000, 6000, 8000 e 10000 mg.mL⁻¹). Para comparação dos resultados também foi avaliada a atividade antioxidante do trolox, testado nas concentrações 25, 62,5, 125 e 250 mg.L⁻¹.

O ensaio foi realizado através da adição em tubos de ensaio de uma alíquota de 90 μL da solução padrão sulfato ferroso, 270 μL de água destilada e 2,7 mL do reagente FRAP. A mistura foi homogeneizada e mantida em banho-maria a 37 °C durante 30 minutos e a leitura da absorbância foi medida a 595 nm. O mesmo procedimento foi realizado para a amostra e trolox. O poder antioxidante do óleo de açaí em reduzir o ferro foi expresso em μM sulfato ferroso/g de amostra (Z), obtido a partir das equações das retas das curvas concentração de sulfato de ferro versus absorbância e concentração da amostra versus absorbância (RUFINO *et al.*, 2007).

3.7.4 Determinação de β-caroteno/ácido linoleico

O método de oxidação do sistema β-caroteno/ácido linoleico está fundamentado em medidas espectrofotométricas da descoloração (oxidação) do β-caroteno induzida pela sua atividade de inibição de radicais livres, gerados durante a peroxidação do ácido linoleico. Assim, a habilidade do óleo de açaí em prevenir o descoloramento do β-caroteno foi avaliada conforme descrita na metodologia descrita por Rufino *et al.* (2010) e da Silva *et al.* (2018).

As amostras do óleo de açaí e do padrão trolox foram solubilizadas em etanol em três concentrações (0,5, 1,0 e 4,0 mg.mL⁻¹). Uma solução de β-caroteno e ácido linoleico foi preparada a partir de 20 mg de β-caroteno dissolvido em 10 mL de clorofórmio e adicionado a 20 μL de ácido linoleico e 265 μL de Tween 40. O clorofórmio foi completamente evaporado com auxílio de oxigenador. Em seguida, adicionou-se cerca de 100 mL de água ultrapura previamente saturada com oxigênio por 30 minutos. Agitou-se vigorosamente a mistura, apresentando uma coloração amarelo-alaranjada e com absorbância entre 0,6 e 0,7 a 470 nm.

Realizou-se o ensaio por meio da adição em tubos de ensaio de uma alíquota de 2,5 mL da mistura reativa, e 0,2 mL da amostra de óleo de açaí nas diferentes concentrações e a leitura realizada imediatamente no tempo zero a 470 nm. Os tubos de ensaio foram incubados em banho-maria à temperatura de 50 °C, e a absorbância monitorada por 120 min em intervalos contínuos de 15 min. Realizou-se o mesmo procedimento para o controle (etanol), e os padrões BHA e trolox. A atividade antioxidante (AA%) foi expressa como porcentagem de inibição da oxidação calculada, onde 0 e 120 correspondem a absorbância no tempo 0 e 120 minutos de reação, respectivamente, segundo a Eq. 07:

$$AA\% = \frac{[(A0-A120) - (B0-B120)]}{[A0-A120] \times 100}$$
 Eq. 7

Onde:

A0-A120 = absorbância do controle.

B0-B120 = absorbância da amostra.

3.8 ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS DO ÓLEO DE AÇAÍ

As análises microbiológicas seguiram o método da *American Public Health Association* (APHA), descrito no Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos (DA SILVA *et al.*, 2017) para análise do óleo de açaí, sendo realizadas no Laboratório de Microbiologia da Unidade de Tecnologia de Alimentos (UTAL). Para o preparo das diluições foram pesadas 25 g de óleo de açaí, solubilizado em 225 mL de água peptonada tamponada (APT), onde correspondeu à primeira diluição 1/10 e a partir desta, realizou as demais diluições 1/100 e 1/1000, a partir destas foram feitas a determinações de microrganismos mesófilos, fungos filamentosos, leveduras e coliformes.

3.8.1 Determinação de presença de microrganismos mesófilos

Para a execução do teste de pesquisa da presença de microrganismos mesófilos, adicionou-se 1mL da amostra e 20mL do meio de cultura seletivo para bactéria, Ágar Padrão para Contagem (*Plate Count Agar* - PCA) estéril, em placas petri. Foram preparadas três placas de petri para cada diluição, 1/10, 1/100 e 1/1000, incubadas à 36°C em estufa incubadora por 48 horas e observado a presença ou não de crescimento bacteriano.

3.8.2 Determinação de presença de fungos filamentosos e leveduras

Para a execução do método de determinação da presença de fungos adicionou-se 1mL da amostra e 20mL do meio de cultura seletivo para fungos Ágar Dchoran Rose Bengal Clorafenicol (DRBC) estéril, em placas petri. Foram preparadas três placas de petri para cada diluição, 1/10, 1/100 e 1/1000, incubadas numa estufa incubadora à 25° por 5 dias, e observado se houve crescimento fúngico.

3.8.3 Determinação de presença de coliformes

Para a determinação da presença de coliformes presentes na amostra, foram realizadas as contagens das colônias de coliformes que cresceram em tubos de ensaio

contendo caldo lactosado com tubos de Duran invertidos para cada diluição, 1/10, 1/100 e 1/1000, incubadas em estufa incubadora à 35° por 48 h, e observado se houve crescimento bacteriano.

3.9 OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA EMULSÃO DE ÓLEO DE AÇAÍ

3.9.1 Preparação da emulsão de óleo de açaí

A emulsão consistiu de uma fase orgânica e uma fase aquosa. A fase orgânica foi composta pela gordura de óleo de açaí e tensoativo (Sorbitano monoleato – Span 80®) que foi aquecida e fundida em banho termostatizado até 60°C. A fase aquosa foi aquecida, também, à mesma temperatura juntamente com os tensoativos (Polissorbato 80 - Tween® 80). Quando ambas as fases atingiram 60°C por 5 minutos, a fase aquosa foi vertida na fase orgânica e agitada em Ultra Turrax® (T-18) por 400 rpm por 2 minutos, e posteriormente, a mistura foi sonicada em banho ultrassónico por 10 minutos com potência de 25%, quando ocorreu a formação do sistema estruturado.

3.9.2 Caracterização físico-química da emulsão

O pH da emulsão, em suas diferentes concentrações do emulsificado, foi determinado diretamente com potenciômetro da marca Quimis previamente calibrado. A determinação de distribuição do tamanho de partícula e índice de polidispersividade (PdI) da formulação preparada foi realizada pela técnica de dispersão de luz dinâmica (DLS) através do equipamento Zetasizer (Zetasizer® modelo nano-ZS90, Malvern). Para tanto, as amostras foram avaliadas após o preparo e a leitura foi realizada com diluição de 1:100 em água destilada.

Para as análises de e potencial Zeta (PZ) das emulsões por mobilidade eletroforética, foi empregado equipamento Zetasizer (Zetasizer® modelo nano-ZS90, Malvern). As amostras foram diluídas 500 vezes em solução aquosa de cloreto de sódio a 10 m/mol e a mobilidade eletroforética foi calculada pelo equipamento através da equação de Helmholtz–Smoluchowski. Foram realizadas 10 corridas, em que o resultado foi equivalente à média dentre estas. As análises foram realizadas em triplicata.

3.9.3 Morfologia da nanoemulsão de óleo de açaí — de — touceira (*Euterpe oleracea* Mart.)

A morfologia foi feita em microscópio eletrônico de transmissão (MET), modelo Tecnai Spirit Biotwin G2. Inicialmente foi preparada uma diluição aquosa da emulsão, na razão de 1:100 em água destilada. Uma gota da amostra diluída foi colocada em uma grade de cobre com malhas de 400 Mesh por unidade. Após 30 segundos, o excesso foi retirado em filme contínuo utilizando papel filtro. Em seguida, foi adicionada uma gota de ácido fosfotungstico a 2% e novamente após 30 segundos foram secas em filme contínuo utilizando papel filtro.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO ÓLEO DE AÇAÍ – DE – TOUCEIRA (*Euterpe oleracea* Mart.)

Através da metodologia de Bligh e Dyer (1959) foi possível extrair 10 gramas de óleo de açaí a partir de 100 gramas de polpa. O óleo de açaí apresenta coloração esverdeada conforme a figura 05.

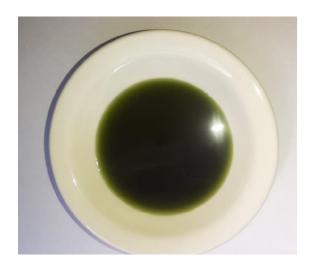


Figura 5 - Óleo de açaí extraído pela metodologia de Bligh e Dyer (1959).

A caracterização físico-química dos óleos vegetais fornece dados importantes a respeito da natureza destes, e esses procedimentos podem ser realizados com auxílio de equipamentos caros e sofisticados, por exemplo, os espectrofotômetros e cromatógrafos. Porém existem análises químicas tradicionais realizadas normalmente por meio de titulações, estas apesar de requerer uma grande quantidade de material químico e mão de obra dentro do laboratório, fornecem dados muito importantes sobre a natureza e controle de qualidade do óleo em questão. Os valores obtidos para os parâmetros de índice de peróxido, índice de acidez, índice de saponificação, índice de iodo, índice de refração e densidade do óleo de açaí são observados na Tabela 2.

Parâmetros	Resultados *	Alves (2015)
Índice de acidez (mg KOH.g-1)	1,85±0,15	$0,42\pm0,007$
Índice de peróxidos (meq.kg ⁻¹)	$8,25\pm0,003$	$1\pm0,02$
Índice de saponificação (mg	180,95±0,73	$104,6\pm7,1$
$KOH.g^{-1}$)		
Índice de iodo (gI ² 100.g ⁻¹)	76±10,7	-
Densidade (g/cm a 24 °C)	$0,83\pm0,01$	$0,96\pm0,02$
Índice de refração	1,46	1,46

Tabela 2 – Resultados da caracterização físico – química do óleo de açaí – de – touceira (E. oleracea Mart.).

O índice de acidez é um dos mais importantes parâmetros de qualidade do óleo vegetal. Ele reflete o grau de rancidez hidrolítica resultado da deterioração dos triacilgliceróis, que resulta no aumento de ácidos graxos livres ocasionando mudanças sensoriais no óleo, como diferenças na cor e no odor, e consequentemente nos produtos derivados deste óleo (VALENTE et al., 2022).

O valor do índice de acidez do óleo de açaí foi de 1,85±0,15 mg KOH.g⁻¹ de óleo. Segundo a RDC 270 da ANVISA (BRASIL, 2005), os óleos prensados a frio e não refinados devem apresentar acidez máxima de 4,0 mg KOH.g⁻¹ de óleo. Desta forma, para o parâmetro acidez, o óleo de açaí apresentou resultado de acordo com o preconizado pela legislação.

Alguns fatores como temperatura, ar atmosférico, luz e amadurecimento do fruto podem favorecer o aumento do grau de rancidez hidrolítica. Armazenar o óleo de maneira correta para evitar sua deterioração ocasionada por estes fatores ajuda a aumentar a vida de prateleira do produto. Mesmo assim, óleos vegetais extraídos de polpa, tal como o óleo de açaí, apresentam maiores taxas de ácidos graxos livres porque a polpa apresenta enzimas lipolíticas que aceleram a degradação dos triacilgliceróis.

Por sua vez, o índice de peróxido do óleo de açaí foi determinado como 8,25±0,003 mEq.kg⁻¹ de óleo. Segundo a RDC 270 da ANVISA (BRASIL, 2005), os óleos prensados a frio e não refinados podem apresentar um índice de peróxido de no máximo 15 mEq.kg⁻¹ de óleo. O resultado obtido neste trabalho está, portanto, de acordo com a legislação.

^{*}Resultados da análises físico-química de óleo de açaí e expressos por média e desvio padrão.

O índice de saponificação é a medida da quantidade de álcali (em mg KOH) necessária para saponificar 1g de óleos e gorduras (IAL, 2008). Quanto maior é o índice de saponificação, menor é a média do comprimento das cadeias dos triacilgliceróis (SANTOS; MARTINS, 2004). Observando os valores da Tabela 2, pode-se verificar que o índice de saponificação médio do óleo é de 180,95±0,73 mg KOH.g-1. Pereira (2015) encontrou um índice de saponificação de 199 mg KOH.g-1 de óleo de açaí extraído da polpa. Souki (2022) avaliou as características físico-químicas do óleo de açaí fornecido pela empresa Gran Oils, e obtiveram um índice de saponificação igual a 190,93 mg KOH.g-1 de óleo. Os resultados indicam que o índice de saponificação encontrado no presente estudo está de acordo com os dados relatados na literatura.

O índice de saponificação permite a caracterização de cada óleo, medindo a quantidade de base necessária para saponificar todo o conteúdo lipídico de uma amostra, sendo específico para cada óleo e, portanto, importante critério de identificação (VALENTE *et al.*, 2022). Para Pereira (2015), o valor de saponificação é a medida do peso molecular médio dos ácidos graxos presentes no óleo. Esse parâmetro fornece informações importantes a respeito de adulterações dos óleos vegetais, quando estes são misturados com matéria insaponificável, como óleo mineral.

O índice de iodo, índice de refração e a densidade dos óleos vegetais são parâmetros físicos influenciados pelo grau de insaturações presentes nos ácidos graxos. Desta forma, é possível verificar a pureza do óleo ou se houve alguma adulteração. Índice de Iodo, também conhecido como número de iodo é um índice de qualidade com o qual se mede o grau de instauração, ou seja, as quantidades de ligações insaturadas nos óleos vegetais ou gorduras (CUNHA; DE BRITO; DE AMORIM SILVA, 2023).

O valor de Índice de Iodo encontrado para o óleo de açaí nesse estudo, foi de 76±10,7 gI²/100.g¹¹, valor semelhante ao encontrado por Pereira (2015) com resultados de 71 gI²/100.g¹¹ e abaixo de Souki (2022) que foi de 124,51 gl²/100.g¹¹. O valor do índice de refração encontrado para o óleo de açaí foi de 1,46, semelhante com os resultados de Pereira (2015), com valor de 1,47. Quanto ao valor encontrado no presente estudo para a densidade do óleo de açaí foi de 0,83±0,01g.mL¹¹ a 24°C, esse valor encontra-se inferior aos valores de densidade encontrados na literatura para os óleos de açaí. Nos estudos de Pereira (2015), Alves (2015) e Souki (2022), encontraram valores de 0,95 g.mL¹¹ a 24°C, 0,96 g.mL¹¹ a 24°C e 0,91 g.mL¹¹, respectivamente.

A densidade está diretamente ligada com a estrutura molecular de um composto. Quanto maior o comprimento da cadeia carbônica, maior será a densidade, no entanto, este valor decrescerá quanto maior forem o número de instaurações presentes na molécula. A presença de impurezas também poderá influenciar na densidade (CUNHA; DE BRITO; DE AMORIM SILVA, 2023). Desta forma, o índice de iodo, refração e a densidade do óleo de açaí estudado está de acordo com os valores encontrados na literatura.

4.2 PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS DO ÓLEO DE AÇAÍ – DE – TOUCEIRA (*Euterpe oleracea* Mart.)

A análise da composição de ácidos graxos por cromatografia a gás constitui um mecanismo importante para avaliar a autenticidade dos óleos vegetais. Estes são ácidos monocarboxilicos com cadeias de 8 a 24 átomos de carbonos e vários graus de insaturações. Conforme a espécie oleaginosa, variações na composição química do óleo vegetal são expressas por variações na relação molar entre os diferentes ácidos graxos presentes na estrutura do triacilglicerol (GUALBERTO, 2022; SOUZA *et al.*, 2022).

O resultado mostrou que o óleo de açaí é constituído pelo ácido graxo monoinsaturado, o ácido oleico (34,7%), seguido do ácido linoleico (11,2%) como ácido graxo monoinsaturado. Também foi possível verificar a presença de ácido graxo saturado, sendo o ácido palmítico (40,7%) o componente majoritário, seguindo do ácido esteárico (13,4%), colocando esse fruto em uma condição atraente para o mercado de alimentos funcionais. Para Ibiapina *et al.* (2022) o uso de matérias-primas ricas em ácidos graxos monoinsaturados e poli-insaturados é de grande interesse para as indústrias de alimentos e bebidas que buscam alternativas para elaboração de produtos mais saudáveis (RAHIM *et al.*, 2023).

Com relação à composição de ácidos graxos do óleo de açaí descrito na Tabela 3, o perfil da amostra indicou uma composição diversificada em função dos teores de ácidos graxos encontrado, com destaque para o C16:0 palmítico e C18:1 oleico que representa mais de 70,5 % de toda a amostra. Nos estudos de Pereira (2015) Contente (2016) e Guimarães *et al.* (2020), o teor de ácido oleico encontrado foi de 47,6% 47,5%, e 57,6%; 24,1%, 24,0% e 15,4% de ácido palmítico, respectivamente.

Tabela 3 – Resultado do perfil dos ácidos graxos do óleo de açaí – de – touceira (*E. oleracea* Mart.) por cromatografia gasosa acoplada à espectrofotômetro de massa.

Ácidos graxos	Concentração (%)
Ácido palmítico C16:0	40,7
Ácido oleico C18:1	34,7
Ácido esteárico C18:0	13,4
Ácido linoleico C18:2	11,2

As diferenças na composição do óleo açaí pode ser explicadas por ele ser um produto de origem natural e sua composição pode variar conforme a época de colheita, além do método de extração, conservação e com o local da coleta (LOUREIRO CONTENTE *et al.*, 2020). Algumas pesquisas como compararam o perfil de ácidos graxos do óleo de açaí com o perfil dos óleos de oliva e de abacate. Estes são dois produtos vegetais muito apreciados no mercado, utilizados na indústria de alimentos e de cosméticos na forma *in natura* e como matéria-prima (NASCIMENTO *et al.*, 2008; PEREIRA, 2015; CONTENTE, 2016).

Os ácidos graxos, oleico e linoleico, trazem vantagens para o uso do óleo de açaí quando aplicados em produtos de uso tópico (DOS SANTOS *et al.*, 2017; LOUREIRO CONTENTE *et al.*, 2020). O ácido oleico, principal ácido graxo insaturado constituinte do óleo do açaí, pertence à classe dos lipídios vitais na construção da membrana celular. Esse lipídio está presente na epiderme e tem a função de proteger e fazer a barreira da pele evitando a desidratação por perda de água transepidérmica. O ácido linoleico pode restaurar a pele humana de vários distúrbios dermatológicos em cinco dias quando aplicado por via tópica (BATISTA *et al.*, 2016; FORTUOSO *et al.*, 2020; KIM *et al.*, 2020).

O ácido oleico (C18:1) também chamado de ômega 9, é o ácido graxo monoinsaturado, mais encontrado na natureza e, o seu consumo não influencia significativamente no nível do colesterol total (SANTOS et al., 2003), mas dietas ricas em ácidos graxos monoinsaturados demonstram efeitos mais favoráveis sobre os níveis de triglicérides e de HDL – colesterol, dessa forma reduzindo o risco de doenças cardiovasculares (KRIS-ETHERTON *et al.*, 1999).

O ácido linoleico é um ácido graxo poli-insaturado, considerado essencial, ou seja, o organismo humano não é capaz de sintetizá-lo, sendo necessário a ingestão através de alimentos. O ácido linoleico é transformado em ácido araquidônico no organismo. Esses ácidos graxos poli-insaturados são importantes na estrutura e respiração celular, agem como precursores da síntese de substâncias mediadoras da inflamação, atuam na regulação da pressão e na coagulação do sanguínea. (RODRIGUEZ *et al.*, 2003; MORAES E COLLA, 2006).

O ácido palmítico pode ser empregado como agente emulsificante e/ou promotor de penetração cutânea em formulações tópicas. Baseado nisso, é possível dizer que o óleo de açaí pode ser aplicado na constituição física da nanoemulsão, assim como, ter potenciais benefícios do ponto de vista farmacêutico e cosmético (LOUREIRO CONTENTE *et al.*, 2020; HE et al., 2023).

Esse resultado é considerado satisfatórios, do ponto de vista da estabilidade do óleo, uma vez que esses ácidos graxos, devido a sua quantidade de duplas ligações, favorecem a oxidação dos lipídios (SANCHES *et al.*, 2023). A importância dos perfis de ácidos graxos do açaí está diretamente implicada na redução de mortalidade e morbidade das doenças Cardiovasculares (DCV). Além de servir como matéria-prima o óleo do açaí apresenta um leque de atividades farmacológicas já avaliadas em outros trabalhos, tais como antiproliferativa, anti-inflamatória, antioxidante e hipocolesterolêmica (KANG *et al.*, 2012; BARROS *et al.*, 2015; SANTOS, 2019; MATTA, *et al.*, 2015).

4.3 ESTABILIDADE TÉRMICA DO ÓLEO DE AÇAÍ – DE – TOUCEIRA (*Euterpe oleracea* Mart.)

A análise termogravimétrica foi utilizada para estimar a estabilidade térmica pelas curvas termogravimétrica (TG) que fornece informações com relação às variações da massa do óleo de açaí em função da temperatura sob atmosfera inerte de N₂. A derivadas termogravimétricas (DTG) é a primeira derivada da curva TG. Nesta os "degraus" correspondentes às variações de massa da curva TG são substituídos por picos que determinam áreas proporcionais às variações de massa, tornando as informações, referentes à estabilidade térmica do óleo de açaí, visualmente, mais acessíveis e com melhor resolução.

O estudo da estabilidade térmica do óleo de açaí, através da curva TG/DTG do óleo em atmosfera de N₂ (Figura 6) apresentou extrapolação onset de 392,29 °C e endset 433,35°C, com 93,25% de perda de massa. Através da curva DTG observamos um pico na temperatura 428,47 °C não distinguidos na curva TG.

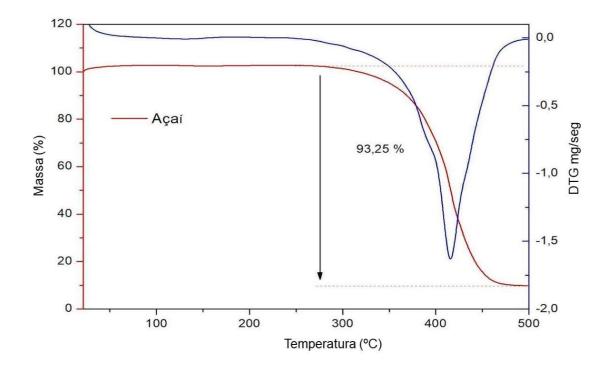


Figura 6 - Curvas TG e DTG referentes ao óleo de açaí - de - touceira (Euterpe oleracea Mart.).

Possivelmente os diferentes eventos ocorrem em consequência, dos diferentes tamanhos e diferentes número de insaturações dos ácidos graxos. O comportamento térmico do óleo de açaí em atmosfera sintético apresentou três eventos sobrepostos, transformando o processo praticamente em um (Figura 6). O evento principal ocorre na temperatura onset de 384,89 °C e endset 443,89 °C, com 93,25% de perda de massa.

A decomposição do óleo ocorre principalmente pela oxidação dos ácidos graxos provocada por temperatura alta, porém quando submetidas a atmosfera normal, além do efeito da temperatura, observa-se a influência do oxigênio sobre a amostra, este reage com os ácidos graxos prolongando o tempo de decomposição (PEREIRA, 2015; CONTENTE, 2016).

4.4 ESPECTROMETRIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO DO ÓLEO DE AÇAÍ – DE – TOUCEIRA (*Euterpe oleracea* Mart.)

A espectroscopia em infravermelho com transformada de Fourier - FTIR tem o objetivo de identificar ou mesmo determinar os grupos funcionais característicos dos compostos orgânicos, propiciando um conhecimento preliminar da sua estrutura química (GUERRERO-PÉREZ; PATIENCE, 2020; SONG *et al.*, 2020). A maioria dos óleos providos de matriz vegetal apresentam características químicas similares, sendo os principais compostos os tri-estéres e triacligliceróis formados pela ligação do glicerol com três moléculas de ácido graxo (DEGANO *et al.*, 2016).

Os espectros vibracionais de infravermelho, obtidos entre a região de 4000 a 600 cm⁻¹, correspondente aos grupamentos funcionais da amostra do óleo de açaí estão ilustrados na Figura 7. A natureza hidrocarbônica da amostra foi analisada nos estiramentos observados na região de 2.956 a 2.840 cm⁻¹. Uma pequena banda que pode ser observada em torno de 3.072 cm⁻¹ indica a presença de insaturações nas cadeias carbônicas. A caracterização como óleo graxo pode ser observada na banda que se encontra na região de 1.796 a 1.564 cm⁻¹. Esta região é característica do estiramento C=O, onde a região em torno de 1.740 cm⁻¹ corresponde aos estiramentos C=O de grupos éster (ZHANG *et al.*, 2021) e 1.710 cm⁻¹ corresponde aos estiramentos C=O de grupos ácido carboxílico (ARAUJO *et al.*, 2021).

Observa-se que existe a presença dos dois grupos, ou seja, os ácidos graxos presentes no óleo encontram-se na sua forma glicerídica, entretanto existe a presença de considerável quantidade de ácidos graxos livres, conforme indicado pelo alto valor do índice de acidez do óleo extraído. A região em torno de 3.400 cm⁻¹ corrobora a presença de ácidos graxos livres, uma vez que se observa uma pequena elevação nesta região, que corresponde às interações do tipo ligação de hidrogênio, realizadas por grupos O-H (BURATTO *et al.*, 2020).

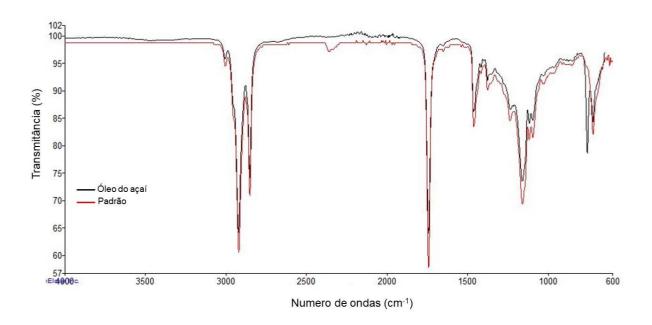


Figura 7 – Resultado da Análise por espectroscopia em infravermelho com transformada de Fourier - FTIR do óleo de açaí – de – touceira (*Euterpe oleracea* Mart.).

Neste sentido, os resultados apresentados neste teste corroboram com o estudo de Castro *et al.* (2021) e pode indicar que o óleo de açaí não está adulterado e encontra-se em boas condições para uso, assim como apresenta vantagens para ser utilizado no preparo de emulsões.

4.5 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO ÓLEO DE AÇAÍ (Euterpe oleracea Mart.)

A atividade antioxidante (AA) *in vitro* de acordo com os métodos DPPH•, FRAP e ABTS^{•+} e o poder redutor pelo sistema β-caroteno/ácido linoleico para o óleo de açaí, estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 – Resultados da atividade antioxidante e poder redutor do óleo de açaí – de – touceira (<i>E</i> .
oleracea Mart.) pelos métodos de DPPH, ABTS, FRAP e Sistema β-caroteno/ácido linoleico.

Método de AA	Unidade	*Concentração	
** DDPH•	EC ₅₀ expresso em g de amostra.g ⁻¹ de	91,33±1,75	
	DPPH•		
ABTS**	μM de Trolox.g ⁻¹ de amostra	18,91±1,86	
FRAP	μM de sulfato ferroso. $g^{\text{-}1}$ de amostra	$57,05\pm1,84$	
Sistema β-			
caroteno/	% Proteção	$88,66\pm1,90$	
ácido linoleico			

^{*}Valores médios ± desvio padrão (n=3)

Na avaliação da AA *in vitro* pelo método DPPH•, o radical livre DPPH• reage com o antioxidante, convertendo-se à sua forma reduzida. Nessa reação, a solução metanólica de DPPH•, inicialmente de coloração violeta, torna-se amarela; e o grau deste descoramento, monitorado através do espectrofotômetro, indica a habilidade do antioxidante em sequestrar o radical livre. Uma forma usual de expressar os resultados nesse ensaio é calcular a quantidade do antioxidante capaz de sequestrar metade dos radicais livres DPPH• presentes na solução. Esse índice denomina-se EC₅₀. Quanto menor o valor de EC₅₀ apresentado pelo extrato, menor quantidade do extrato será necessária para reduzir 50% do radical livre DPPH•, e maior será sua atividade antioxidante.

No presente estudo, avaliou-se a capacidade dos extratos hidroalcóolico da polpa de açaí em sequestrar os radicais DPPH• em distintas concentrações (8, 20, 40 e 80 mg.mL⁻¹), variando essas concentrações de acordo com a capacidade antioxidante de cada extrato, de forma a obter uma curva linear entre a concentração do antioxidante e o sequestro do radical. A partir da curva obtida, calcula-se o EC₅₀. O extrato aquoso hidroalcóolico na concentração de 40 mg.mL⁻¹ foi o que apresentou maior atividade antioxidante, com EC₅₀ = 291,33±1,75. O resultado encontrado por Rufino *et al.* (2011) a capacidade antioxidante do óleo obtido da polpa do açaí BRS-Pará cujo valor EC₅₀ foi igual a 646,30. No estudo de Matos (2017) apresentou EC₅₀ de 134,14. Cabe salientar que

^{**}EC₅₀ = Quantidade de amostra necessária para reduzir em 50% a concentração inicial do radical DPPH•

neste método, quanto menor o valor de EC₅₀ maior será a atividade antioxidante da amostra em questão.

O radical catiônico ABTS** é gerado em solução aquosa ou em solução orgânica, utilizando-se enzimas; ou quimicamente, a partir do cromógeno ABTS (ζmax = 342 nm), que é solúvel em água e quimicamente estável (ANTOLOVICH *et al.*, 2002); entretanto, o radical ABTS** gerado resulta menos estável, apresentando novas características espectrais, com máximos de absorção a 414, 645, 734 e 815 nm (PRIOR; CAO, 1999). A capacidade antioxidante do óleo de açaí pelo método ABTS**, detectou-se 18,91±1,86 μM Trolox.g-¹ de óleo, valor inferior quando comparado aos estudos de Matos (2017) que detectou 2067,42 μM Trolox.g-¹ de óleo, este resultado demonstra que o óleo de açaí não foi tão eficiente na captura do radical ABTS, quanto maior o valor, maior a capacidade antioxidante do óleo. A capacidade antioxidante pelo método FRAP apresentou resultado de 57,05±1,84 μm de FeSO₄.g-¹.

Para avaliar a AA *in vitro* do óleo de açaí, usando o ensaio do β-caroteno/ácido linoleico, foram utilizadas três concentrações, de forma que os antioxidantes das amostras e do padrão BHA e trolox reagissem com o sistema emulsionado, produzindo quedas da densidade óptica em intervalos passíveis de serem quantificados.

A capacidade antioxidante do extrato etanólico do açaí pode ser visualizada na Tabela 4. Os resultados demonstram que extrato etanólico apresentaram atividade em combater os peróxidos formados. O extrato alcoólico na 0,5 mg.mL⁻¹ e 1,0 mg.mL⁻¹ apresentaram uma baixa atividade antioxidante. No entanto, extrato alcoólico na concentração de 4,0 mg.mL⁻¹ apresentou uma elevada capacidade antioxidante, onde apresentou 88,66±1,90% de inibição da oxidação de substratos β-caroteno/ácido linoleico.

Nesta metodologia a descoloração da solução de β-caroteno/ácido linoleico, ocorre em função das estruturas formadas pela oxidação do ácido linoleico, que atacam as duplas ligações do β-caroteno, perdendo seu cromóforo, resultando na descoloração do complexo alaranjado característico da solução. A presença de antioxidantes no sistema protege o ácido linoleico, prolongando o período de formação dos radicais (HUANG; WANG, 2004). Quanto menor a queda na densidade óptica da amostra, mais potente é o antioxidante em impedir a degradação do β-caroteno. Para Hassimoto, Genovese e Lajolo (2005), a capacidade antioxidante pelo método β-caroteno/ácido linoleico, é classificada,

como: níveis elevados >70%; intermediário de 40-70% e baixo <40%, na inibição da oxidação.

4.6 CONTROLE DE QUALIDADE MICROBIOLÓGICO DO ÓLEO DE AÇAÍ (Euterpe oleracea Mart.)

A análise microbiológica da matéria-prima vegetal tem a função de averiguar as condições de coleta, extração e estocagem pelo qual o vegetal foi submetido, uma vez que esses processos podem ser porta de entrada para microrganismos não patogênicos e patogênicos. Microrganismos fermentadores, os fungos, e os patogênicos (*Escherichia coli, Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*), podem alterar as características físico-químicas dos óleos, podendo provocar sérios problemas de saúde aos seus consumidores.

As análises de controle de qualidade microbiológico (Tabela 5) do óleo de açaí revelaram que este não está contaminado, pois, não foi observado crescimento de fungos filamentosos, leveduras e coliformes. Para a pesquisa de Contagem Padrão em Placas (CPP) revelou presença de microrganismos mesófilos na amostra, apresentando $6x10^1$ UFC.mL⁻¹ bem abaixo do limite de 10^5 UFC.mL⁻¹, resultado condizente com o preconizado pela legislação vigente. A Farmacopeia Brasileira exige a ausência de *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* e *Salmonella*. Além de requisitar limites de 10^3 UFC.mL⁻¹ de fungos filamentosos e leveduras, 10^3 UFC.mL⁻¹ de enterobactérias e bactérias gramnegativas e 10^5 UFC.mL⁻¹ de bactérias aeróbias.

Tabela 5 – Resultado das análises microbiológicas do óleo de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.), como contagem de coliformes, mesófilos e de fungos filamentoso e leveduras.

Microrganismos	Contagem
Coliformes NMP.mL ⁻¹	$6x10^{1}$
Mesófilos UFC.mL ⁻¹	0
Fungos filamentosos e Leveduras	0
UFC.mL ⁻¹	

Os aspectos regulatórios sobre os limites máximo de microrganismos na amostra vegetal têm variações entre os países e por vezes dentro do próprio país. Contudo os testes utilizados de controle de qualidade microbiológico do material vegetal normalmente seguem as especificações para produtos não-estéreis.

4.7 PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA NANOEMULSÃO DE ÓLEO DE AÇAÍ – DE – TOUCEIRA (*Euterpe oleracea* Mart.)

4.7.1 Desenvolvimento da formulação da nanoemulsão

As nanoemulsões óleo em água (O/A) foram formuladas mediante o método de alta energia assistida por ultrassom, onde as ondas ultrassônicas de alta intensidade com frequência > 20 kHz gerou uma força de cisalhamento capaz de quebrar a emulsão previamente preparada em pequenas gotículas.

Os métodos de alta energia utilizam equipamentos capazes de produzir uma força mecânica intensa que supere a força interfacial entre dois líquidos imiscíveis e promover a formação de glóbulos em escala nanométrica (AGOSTINHO, 2017). Alguns métodos de obtenção de nanoemulsões, como a emulsificação assistida por ultrassom, tem se destacado, por apresentar benefícios como baixo custo energético produtivo para a obtenção de sistemas coloidais monodispersos e cineticamente mais estáveis, além da facilidade operacional e de controle do processo (RIBEIRO *et al.*, 2022).

A nanoemulsão resultante apresentou aspecto leitoso, estável e de cor esverdeada, devido, principalmente, ao óleo de açaí (Figura 8). A formulação preparada (Tabela 6) com 5% de óleo de açaí e 1% de tensoativos, foram mantidas em repouso por 24 h a temperatura ambiente, em recipiente de vidro e hermeticamente fechado. Decorridas 24 h, procedeu-se a observação macroscópica e teste físico-química dos experimentos.

A determinação do EHL do óleo da polpa de *E. oleracea* ocorreu através do desenvolvimento de formulações com tensoativos de EHL conhecidos. Os tensoativos de baixo EHL formam uma emulsão do tipo água em óleo, enquanto os tensoativos de alto EHL formam uma emulsão do tipo óleo em água.

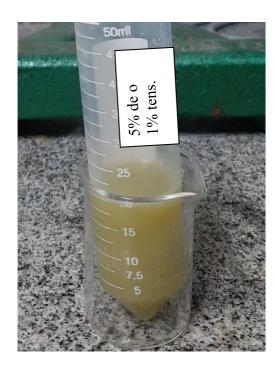


Figura 8 - Formulação da nanoemulsão com 5% de óleo de açaí e 1% de tensoativos após 24h.

Tabela 6 – Composição da nanoemulsão elaborada a partir do óleo de açaí (Euterpe oleracea Mart.).

Matéria prima	Quantidade
Óleo de açaí	1 g
Tween 80	0,626 g
Span 80	0,374 g
Água ultrapura	20 mL

A combinação de tensoativos melhora a estabilidade da nanoemulsão, pois a diferença entre o tamanho dos grupos principais das moléculas promove efeito sinérgico entre eles, formando um revestimento protetor ao redor das gotículas, facilitando a quebra das mesmas durante o processo de homogeneização, reduzindo a tendência de agregação entre elas, além de melhorar a dispersibilidade e solubilidade da fase contínua (KOROLEVA, NAGOVITSINA, YURTOV, 2018; JADHAV *et al.*, 2020).

A seleção dos tensoativos deu-se em razão das características lipofílicas do monoleato de sorbitano (Span 80) e hidrofílicas do polissorbato 80 (Tween 80) além de

possibilitar a formação de gotículas menores que outros polissorbatos da mesma classe. Quando combinados esses tensoativos, diminuem a pressão de *Laplace*, reduzindo a tensão interfacial, possibilitando utilizar menos energia no processo de emulsificação (CHONG et al, 2018; KARAMI, KHOSHKAM, HAMIDI, 2019).

Para determinação do EHL requerido (EHLreq.) das nanoemulsões, fez-se necessária a determinação dos valores de EHL do óleo separadamente e variando-se a composição dos tensoativos, foi possível verificar a relação entre os valores de EHL teóricos. Os tensoativos Span 80 com EHL= 4,3 e Tween 80 com EHL = 15 foram escolhidos baseados em suas características químicas e por serem comumente utilizados em escala laboratorial para produção de nanoemulsões.

A formulação seguiu para o teste de centrifugação por estar macroscopicamente estável. Após o teste observou-se a formação de *creaming* na formulação, processo acelerado por força mecânica. Assim a nanoemulsão do óleo açaí apresentou EHLreq. de 11 que se manteve estável, apresentando 62,6% de Tween 80 e 37,4% de Span 80 na formulação. Baseado nos resultados apresentados por Oliveira (2022) a formulação da nanoemulsão de óleo extraído da semente de açaí apresentou EHLreq. de 6,44, que se manteve estável, contendo 80% de Span 80 e 20% de Tween 80.

Vale salientar que os tensoativos são responsáveis por estabilizar a nanoemulsão, reduzindo a tendência de agregação entre moléculas e aumentando a dispersibilidade. Então é indispensável encontrar a concentração de tensoativo mais apropriada para estabilizar a nanoemulsão. Os tensoativos não-iônicos como Tween 80, são surfactantes com capacidade de realizar adsorção nas superfícies das gotículas, resultando em uma proteção contra a agregação das gotas (McCLEMENTS; DECKER; WEISS, 2007; RAO; McCLEMENTS, 2011).

É importante realizar a variação de concentração de tensoativos por que os tensoativos são os compostos responsáveis pela estabilidade das nanoemulsões, esses compostos anfifílicos criam uma película interfacial que estabiliza o sistema. Além disso, a variação da concentração possibilita encontrar o melhor valor de EHL (RAO, McCLEMENTS, 2011).

4.7.2 Avaliação da estabilidade físico-química das nanoemulsão

A fim de verificar a estabilidade da formulação, a mesma foi avaliada pelos testes de índice de polidispersividade (PdI), tamanho de gotícula, pH e potencial Zeta (PZ), depois de 24 h, os resultados podem ser observados na Tabela 7.

A nanoemulsão produzida com 5% de óleo de açaí, obtidas a partir de uma mistura de tensoativos Tween 80 (62,6%) e Span 80 (37,4%), apresentaram diâmetro médio de partícula de 28,04 ± 0,22 nm (Tabela 7), adequando-se assim os padrões de nanoemulsão. O tamanho inicial das nanoemulsões é determinado pela geometria molecular e pelo empacotamento das moléculas dos tensoativos, sendo que a geometria dos tensoativos é um dos parâmetros mais importantes que influenciam sua capacidade de formar nanoemulsões com tamanho de gotas reduzidas (McCLEMENTS, 2012; MAYER; WEISS; McCLEMENTS, 2013).

Tabela 7 – Resultados das características físico-químicas da nanoemulsão elaborada a partir do de óleo de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) por uso de ultrassom.

Características	Valores
Tamanho da partícula (nm)	28,04±0,22
pН	$6,90\pm0,10$
Índice de polidispersividade	$0,347\pm0,05$
Potencial zeta (mV)	$-25,90\pm0,83$

Um estudo realizado por Wang *et al*. (2009) avaliou o tamanho de gota das nanoemulsões produzidas com uma combinação de tensoativos Tween e Span, e observou que

a mistura do Tween 80 (com uma cadeia hidrofóbica C18) com o Span 20 (com uma cadeia hidrofóbica C12) produziu nanoemulsões com diâmetro médio de gota de 44,7 nm, enquanto na mistura do Tween 80 com o Span 60 (C18) este valor foi de 66,7 nm. Os autores associaram o aumento no tamanho das nanoemulsões com o aumento no comprimento da cadeia do tensoativo lipófilo, o qual aumentou de 12 para 18, uma vez

que as diferenças no empacotamento de tensoativos na interface óleo-água influenciam nas propriedades de tensão

superficial e mobilidade, as quais desempenham um papel importante no tamanho de gotas utilizando métodos de baixa energia (MAYER; WEISS; McCLEMENTS, 2013).

Para verificação do valor de pH foram preparadas 3 diluições da nanoemulsão. O valor médio de pH demonstrado na Tabela 7, após 24 h, foi de 6,90±0,10, no valor de temperatura de 28,20±0,05 °C. Observou-se que na nanoemulsão de óleos não ocorreu a diminuição do pH depois de 24 h, indicando que não houve hidrólise nas formulações produzidas. Sharma *et al.* (2022) relatou que a análise do valor do pH é um teste importante durante o monitoramento da estabilidade das nanoemulsões, pois alterações no seu valor indicam a ocorrência de reações químicas que podem comprometer a qualidade do produto final. No caso de nanoemulsões formuladas com óleos vegetais, a diminuição no valor do pH pode ser decorrente da hidrólise dos ésteres de ácidos graxos, que geram ácidos graxos livres.

Outro fator que foi verificado na nanoemulsão produzida com óleo do fruto de *E. oleracea* foi o índice de polidispersividade (PdI), obtendo um valor de 0,347±0,05 (Tabela 7), estando dentro da faixa que indica uma estreita distribuição entre elas, indicando que a formulação estar estável. Quanto menor o tamanho de partícula e o índice de polidispersividade, mais estável será o sistema (KIM; PARK; LIM, 2015). De acordo com Walker, Decker, McClements (2015), a estabilidade das gotículas depende de fatores como tamanho inicial da gotícula, concentração de tensoativo e método de obtenção.

Segundo Agrawal, Maddikeri e Pandit (2017), o PdI é usado como um fator para determinar a estabilidade da nanoemulsão, sendo uma medida de distribuição do tamanho das gotículas, em uma faixa de 0,1 a 1. Quando o resultado está próximo a zero, significa que a população da amostra é mais homogênea, proporcionando uma alta estabilidade cinética do sistema, valores entre 0,1 e 0,2 indicam uma distribuição estreita e índices acima de 0,5 uma distribuição mais ampla e baixa estabilidade

O PdI (Figura 9) é uma grandeza adimensional, calculada pelo equipamento, que indica a distribuição dos tamanhos de partícula na amostra. Valores de PdI muito pequenos e próximos a 0,05 não são frequentes e indicam alto grau de uniformidade no tamanho das partículas (monodispersão). Já valores acima de 0,7 indicam uma distribuição muito heterogênea, comprometendo a capacidade do equipamento de oferecer uma leitura adequada (MALVERN INSTRUMENTS LTD, 2011).

		Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.nm):
28,33	Peak 1:	41,49	100,0	27,41
0,259	Peak 2:	0,000	0,0	0,000
0,662	Peak 3:	0,000	0,0	0,000
Good				
	0,259 0,662	0,259 Peak 2: 0,662 Peak 3:	28,33 Peak 1: 41,49 0,259 Peak 2: 0,000 0,662 Peak 3: 0,000	28,33 Peak 1: 41,49 100,0 0,259 Peak 2: 0,000 0,0 0,662 Peak 3: 0,000 0,0

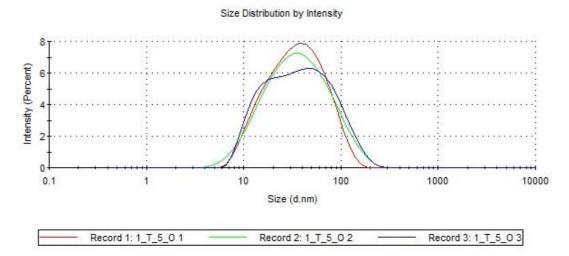


Figura 9 - Gráfico referente ao tamanho de partícula da nanoemulsão de óleo de açaí em relação a intensidade da réplica 1.

Contente (2016) avaliaram a estabilidade de nanoemulsão de óleo em água utilizando os tensoativos de BrijT e Crodure. Após observação do comportamento dos sistemas formados, foram selecionadas as formulações contendo 10% de tensoativo BrijT por apresentarem o tamanho da gotícula de 133,8 nm, Índice de polidispersidade de 0,38 e -27.8 mV de Potencial Zeta. Entretanto, ao utilizar as formulações contendo 10% de tensoativo Crodure, o tamanho da partícula foi de 28,46 nm, 0,38 de Índice de polidispersidade e Potencial Zeta de -27,8 mV.

Com relação ao potencial Zeta (PZ), o valor ficou em -25,90±0,83 mV (Tabela 7). A formulação apresentou um valor de PZ negativo (Figura 6) o que pode estar relacionado a interações com os tensoativos não iônicos utilizados, o que pode ter resultado na

adsorção de íons hidroxilas na interface óleo/água provenientes das ligações de hidrogênio da água com os grupamentos químicos presentes no Tween 80, Span 80 e na composição do óleo *E. oleracea* Mart., tornando a carga superficial da gotícula de nanoemulsão mais negativa.

			Mean (mV)	Area (%)	St Dev (mV)
Zeta Potential (mV):	-34,1	Peak 1:	-34,1	100,0	5,11
Zeta Deviation (mV):	5,11	Peak 2:	0,00	0,0	0,00
Conductivity (mS/cm):	0,0197	Peak 3:	0,00	0,0	0,00
Result quality :	Good				

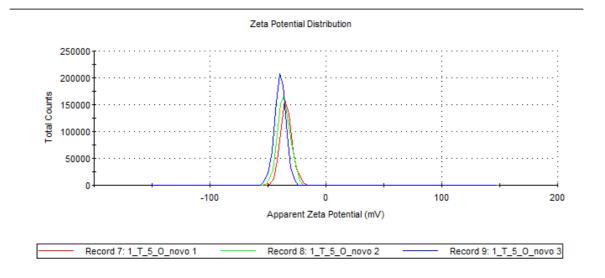


Figura 10 - Gráfico referente ao potencial Zeta da nanoemulsão de óleo de açaí em relação a intensidade da réplica 1.

O PZ é usado para prever e controlar a estabilidade de suspensões ou emulsões. Um valor de potencial zeta > ±30 mV é importante para a estabilidade físico-química das emulsões uma vez que as forças repulsivas tendem a evitar fenômenos de floculação, precipitação e até mesmo separação de fases, aumentando assim a probabilidade de agregação (PIRES, MOURA, 2017). Considerando o valor de PZ da formulação, apresentou valor menor que -30 mV, como demonstrado na Figura 10, o que pode ser um indicativo de instabilidade da formulação apresentou PZ dentro do esperado.

Contente *et al.* (2020) descrevem valores de PZ maior que -30 mV em formulações com óleo do fruto de *E. oleracea* e variações dos tensoativos álcool cetoestearílico etoxilado 200E e o óleo de rícino hidrogenado e etoxilado. Oliveira *et al.* (2016)

desenvolveram nanoemulsões com óleo de *Pterodon emarginatus* Vogel e variações de Tween 80 e Span 80 como tensoativos, obtendo valores de PZ menor que -30 mV após 24 h do preparo, dados que corroboram com os resultados apresentados na pesquisa. Oliveira (2022) relataram que a taxa de PZ observada sobre as nanoemulsões com óleo do fruto de *E. oleracea* e variações de Tween 80 e Span 80 como tensoativos foi abaixo de -30mV.

As nanoemulsões possuem maior potencial de ação, estabilidade da formulação, dispersão em água, baixo custo e causam menor danos ao meio ambiente, principalmente no caso de vetores que possuem parte do seu ciclo ou ambiente vivo em contato com a água, fazendo com que nanoformulações de óleos sejam muito eficientes e altamente ecológicas (ASWATHANARAYAN; VITTAL, 2019; JADHAV *et al.*, 2020).

4.7.3 Morfologia da nanoemulsão

Nas Figuras 11 e 12 foram representadas por micrografias captadas por microscopia eletrônica de transmissão da nanoemulsão, formada por 5% de óleo de açaí, 1% de tensoativos (Tween 80 e Span 80). Foi possível observar nas imagens que a delimitação entre as fases, a interface- óleo-água, é bem definida, sendo possível observar um filme formado ao redor das gotículas de óleo.

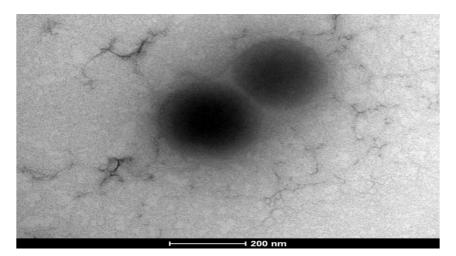


Figura 11 - Micrografias da nanoemulsão de óleo de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) por Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET).

A delimitação da nanoemulsão é resultado da deposição da camada polissacarídica na superfície das gotículas uma vez que a tensoativos possuem propriedades surfactantes sendo responsável por estabilizar a emulsão e permitir a dispersão das gotículas de óleo em fase contínua água.

As micrografias sugerem que as gotículas apresentaram formatos esféricos que representam a forma termodinâmica mais estável para o sistema de nanoemulsão. Observouse que a densidade de gotículas foi alta, apresentando concentração em gotículas bastante próximas umas das outras, tendendo à floculação, o que pode favorecer a coalescência das gotas. Além disso, também foi possível observar na micrografia (Figuras 11 e 12) uma heterogeneidade nos tamanhos das gotas, apresentando gotículas maiores e gotículas de tamanhos mais reduzidos o que condiz com a curva de distribuição de tamanho de gotículas.

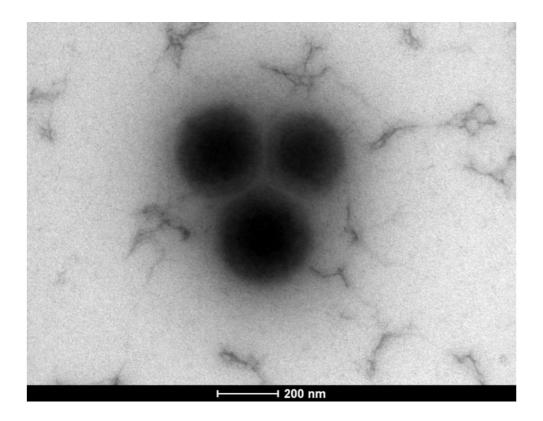


Figura 12 - Micrografias da nanoemulsão de óleo de açaí (*Euterpe oleraceae* Mart.) por Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET).

5 CONCLUSÃO

O desenvolvimento de nanoemulsão a partir de óleo de açaí – de – touceira foi constituído em duas fases distintas. A primeira consistiu no conhecimento do óleo, quanto suas às suas propriedades físico-químicas e constituição química. Demonstrando que o óleo de *E. oleracea* Mart. apresentava-se dentro dos padrões de identidade e qualidade. A segunda fase e, a principal, consistiu no estudo de pré-formulação e na obtenção e caracterização da nanoemulsão utilizando óleo de açaí como fase oleosa.

Esta pesquisa de doutoramento atingiu os objetivos proposto de demostrar o potencial de uso do óleo de açaí de – touceira (Euterpe oleraceae Mart.), uma espécie importante do ponto de vista agroindustrial, e que, portanto, é válido investir recursos e esforços nesta área nanobiotecnologia de produção de nanoemulsão. Como perspectivas futuras, estudos que deem continuidade e complementaridade a este trabalho podem ser realizados. Considerando-se os resultados aqui apresentados, sugere-se para trabalhos futuros:

- Realizar estudo de fotoestabilidade da nanoemulsão a base do óleo de açaí de touceira (*Euterpe oleracea* Mart.);
- Testar a atividade antioxidante e microbiológica da nanoemulsão a base do óleo de açaí – de – touceira (*Euterpe oleracea* Mart.);
- Finalizar o teste de estabilidade acelerada da nanoemulsão a base de óleo de açaí
 de touceira (*Euterpe oleracea* Mart.);
- Realizar estudo de estabilidade longa duração da nanoemulsão a base do óleo de Euterpe oleracea Mart.;
- Realizar o teste de ecotoxicidade da nanoemulsão a base do óleo de E. oleracea
 Mart.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABOOFAZELI, R. Nanometric-scaled emulsions (nanoemulsions). <u>Iranian journal of Pharmaceutical Research: IJPR</u>, v. 9, n. 4, p. 325, 2010.

AGOSTINHO, Luciana Carvalho. **Desenvolvimento e avaliação de nanoemulsão cosmética à base de óleos naturais de urucum** (*Bixa orellana*, L) **e café verde** (*Coffea arabica*, L). 2017. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia), Universidade Estadual de São Paulo, Ribeirão Preto, 2017.

AGRAWAL, N.; MADDIKERI, G. L.; PANDIT, A. B. Sustained release formulations of citronella oil nanoemulsion using cavitational techniques. <u>Ultrasonic Sonochemistry</u>, v. 36, p. 367–74, 2017.

AGUIAR, A. G. R. Manejo de população de açaizeiro (*Euterpe oleracea* Mart.) em parcelas de produção de frutos em área de várzea. 2016. Dissertação (Mestrado em Agriculturas Familiares e Desenvolvimento Sustentável), Universidade Federal do Pará, Belém, 2016.

ANTOLOVICH, M.; PRENZLER, P.D.; PATSALIDES, E.; McDONALD, S.; ROBARDS, K. Methods for testing antioxidant activity. <u>Analyst</u>, v.127, p.183-198, 2002.

ANVISA. AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Farmacopeia Brasileira**, volume 1. 5ª Ed. Brasilia, 2010.

ARREDONDO-OCHOA, T., & SILVA-MARTÍNEZ, G. A. Microemulsion based nanostructures for drug delivery. Frontiers in Nanotechnology, v. 3, p. 753947, 2022.

ASWATHANARAYAN, J.B.; VITTAL, R.R. Nanoemulsions and their potential applications in food industry. <u>Frontiers in Sustainable Food Systems</u>, v. 3, p. 95, 2019.

BAIG, A.; ZUBAIR, M.; SUMRRA, S. H.; NAZAR, M. F.; ZAFAR, M. N.; JABEEN, K.; RASHID, U. *et al.* Heating effect on quality characteristics of mixed canola cooking oils. <u>BMC chemistry</u>, v. 16, n. 1, p. 1-11, 2022.

BALEGAMIRE, J.; VANDAMME, M.; CHEREUL, E.; SI-MOHAMED, S., MAACHE, S. A., ALMOUAZEN, E.; CHEVALIER, Y. *et al.* Iodinated polymer nanoparticles as contrast agent for spectral photon counting computed tomography. <u>Biomaterials Science</u>, v. 8, n. 20, p. 5715-5728, 2020.

BAMISAYE, A.; ADEGOKE, K. A.; ALLI, Y. A.; BAMIDELE, M. O.; IDOWU, M. A.; OGUNJINMI, O. E. Recent advances in nanoemulsion for sustainable development of farm-to-fork systems. <u>Journal of Cleaner Production</u>, p. 139226, 2023.

BANASAZ, S., MOROZOVA, K., FERRENTINO, G., & SCAMPICCHIO, M. et al. Encapsulation of lipid-soluble bioactives by nanoemulsions. <u>Molecules</u>, v. 25, n. 17, p. 3966, 2020.

- BAPTISTA, S. L. Efeito do consumo de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) e de Juçara (*Euterpe edulis* Mart.) sobre biomarcadores metabólicos e de estresse oxidativo em indivíduos saudáveis um ensaio clínico randomizado cruzado de 4 semanas. Tese (Doutorado em Nutrição) Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2020.
- BARBOSA, J. R.; DE CARVALHO JUNIOR, R. N. Food sustainability trends-How to value the açaí production chain for the development of food inputs from its main bioactive ingredients? <u>Trends in Food Science & Technology</u>, v. 124, p. 86-95, 2022.
- BARROS, L.; CALHELHA, R. C.; QUEIROZ, M. J. R.; SANTOS-BUELGA, C.; SANTOS, E. A.; REGIS, W. C.; FERREIRA, I. C. The powerful in vitro bioactivity of *Euterpe oleracea* Mart. Seeds and related phenolic compounds. <u>Ind. Crop. Prod.</u> v. 76, p. 318 322, 2015 https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.05.086.
- BATISTA, C. D. C. R.; DE OLIVEIRA, M. S.; ARAÚJO, M. E.; RODRIGUES, A. M.; BOTELHO, J. R. S.; DA SILVA SOUZA FILHO, A. P.; JUNIOR, R. N. C. *et al.* Supercritical CO₂ extraction of açaí (*Euterpe oleracea*) berry oil: Global yield, fatty acids, allelopathic activities, and determination of phenolic and anthocyanins total compounds in the residual pulp. The Journal of Supercritical Fluids, v. 107, p. 364-369, 2016.
- BIERMANN, U.; BORNSCHEUER, U. T.; FEUSSNER, I.; MEIER, M. A.; METZGER, J. O. Fatty acids and their derivatives as renewable platform molecules for the chemical industry. Angewandte Chemie International Edition, v. 60, n. 37, p. 20144-20165, 2021.
- BLÁZQUEZ, G.; PÉREZ, A.; IÁÑEZ-RODRÍGUEZ, I.; MARTÍNEZ-GARCÍA, C.; CALERO, M. Study of the kinetic parameters of thermal and oxidative degradation of various residual materials. Biomass and Bioenergy, v. 124, p. 13-24, 2019.
- BLIGH, E.G.; DYER, W.K. A rapid method of total lipid extraction and purification. Can. J. Biochem. Physiol., v.37, n.8, p. 911 917, 1959.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Instrução Normativa n°01, de 07 de janeiro de 2000. **Regulamento técnico para fixação dos padrões de identidade e qualidade para polpa de açaí**, 2000. Disponível em: www.anvisa.gov.br/legis/portaria/2798.htm. Acesso em: 21 de outubro de 2022.
- BRASIL. MINISTÉRIO DASAÚDE. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução RDC n° 270, de 22 de setembro de 2005. Aprova o Regulamento Técnico Para Óleos Vegetais, Gorduras Vegetais E Creme Vegetal. **Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil.** Brasília, 23 de setembro de 2005.
- BURATTO, R. T.; COCERO, M. J.; MARTÍN, A. Characterization of industrial açaí pulp residues and valorization by microwave-assisted extraction. <u>Chemical Engineering and Processing Process Intensification</u>, 160, 108269, 2020. https://doi.org/10.1016/j.cep.2020.108269.
- CARPENTER, J.; SAHARAN, V. K. Ultrasonic assisted formation and stability of mustard oil in water nanoemulsion: Effect of process parameters and their optimization. Ultrasonics Sonochemistry, v. 35, p. 422-430, 2017.

- CASTRO, M. A. Turismo gastronômico na Amazônia paraense: as perspectivas de consolidação do destino Belém-PA sob a análise da oferta. Dissertação (Mestrado em Ciências) Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.
- CHANG, Ming et al. Sea buckthorn pulp oil nanoemulsions fabricated by ultra-high pressure homogenization process: A promising carrier for nutraceutical. <u>Journal of Food</u> Engineering, v. 287, p. 110129, 2020.
- CHOI, A. J.; KIM, C. J.; CHO, Y. J.; HWANG, J. K.; KIM, C. T. Characterization of capsaicin-loaded nanoemulsions stabilized with alginate and chitosan by self-assembly. <u>Food and Bioprocess Technology</u>, v. 4, p. 1119-1126, 2011.
- CHONG, W. T.; TAN, C. P.; CHEAH, Y. K.; B. LAJIS, A. F.; HABI MAT DIAN, N. L.; KANAGARATNAM, S.; LAI, O. M. Optimization of process parameters in preparation of tocotrienol-rich red palm oil-based nanoemulsion stabilized by Tween 80-Span 80 using response surface methodology. <u>Plos one</u>, n. 13, v. 8, 2018.
- CICHOSKI, P.; CORONA, H. M. P.; DE MELLO, N. A. Desenvolvimento sustentável e agenda 2030: reflexões sobre a relação sociedade e natureza. <u>Terr@ Plural</u>, v. 16, p. 1-23, 2022.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO CONAB. (2019). Análise mensal: Açaí (fruto) mar/2019. Disponível em: < https://www.conab.gov.br/info-agro/analises-do-mercado-agropecuario-e-extrativista/analises-do-mercado/historico-mensal-de sociobiodiversidade/item/15512-acai-analise-mensal-marco-2019>.Acesso em: 13 de maio de 2021.
- CONTENTE, D. M. L. **Obtenção e caracterização de nanoemulsão óleo em água a partir de óleo de açaí** (Euterpe oleracea M.) Dissertação (Mestrado) Universidade Federal do Pará, Instituto de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Belém, 2016.
- COSTA, D. P.; NADAL, F.; DA ROCHA, T. C. The first botanical explorations of bryophyte diversity in the Brazilian Amazon mountains: high species diversity, low endemism, and low similarity. <u>Biodiversity and Conservation</u>, v. 29, p. 2663-2688, 2020.
- COUTINHO, R. M. P.; FONTES, E. A. F.; VIEIRA, L. M.; BARROS, F. A. R. D.; CARVALHO, A. F. D.; STRINGHETA, P. C. Phsicochemical and microbiological characterization and antioxidante capacity of açaí pulps marketed in the states of Minas Gerais and Pará, Brazil. <u>Ciência Rural</u>, v. 47, n. 1, 2017. https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20151172.
- CUNHA, I. M. F.; DE BRITO, K. L. F.; DE AMORIM SILVA, M. Obtenção de biodiesel metílico a partir da transesterificação in situ das sementes de cumbaru (*Dipteryx alata* Voguel). Revista Contemporânea, v. 3, n. 10, p. 17352-17370, 2023.
- DA SILVA, B. D.; ROSARIO, D. K. A. D.; CONTE-JUNIOR, C. A. Can droplet size influence antibacterial activity in ultrasound-prepared essential oil nanoemulsions? Critical Reviews in Food Science and Nutrition, v. 63, n. 33, p. 12567-12577, 2023.

- DA SILVA, L. A. D.; RAPOSO, J. D. A.; CAMPOS, L. P. G.; CONCEIÇÃO, E. C. D.; OLIVEIRA, R. B. D.; MOURÃO, R. H. V. Atividade antioxidante do óleo essencial de *Myrcia sylvatica* (G. Mey.) por diferentes métodos de análises antioxidantes (ABTS, DPPH, FRAP, β-caroteno/ácido linoleico). <u>Revista Fitos</u>, v. 12, n. 2, p. 117-126, 2018.
- DA SILVA, M. A. C. N.; WOLFF, L. A. S.; BORGES, K. R. A.; VALE, A. A. M.; DE AZEVEDO-SANTOS, A. P. S.; XAVIER, M. A. P.; DE CARVALHO, J. E. Açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) by product reduces tumor size and modulates inflammation in Ehrlich mice model. <u>Journal of Functional Foods</u>, v. 103, p. 105474, 2023.
- DA SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H. Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água. 5 ed. São Paulo, p. 560, 2017.
- DE CASTRO, R. C.; COSTA, L. F. S.; MARTINS, G. B. C. et al. Extração e análise de propriedades físico-químicas do óleo de açaí (Euterpe oleracea Mart.). Research, Society and Development, v. 10, n. 8, p. 1 -5, 2021.
- DEGANO, I.; LA NASA, J.; GHELARDI, E.; MODUGNO, F.; COLOMBINI, M. P. Model study of modern oil-based paint media by triacylglycerol profiling in positive and negative ionization modes. <u>Talanta</u>, v. 161, p. 62-70, 2016.
- DELSHADI, R.; BAHRAMI, A.; TAFTI, A. G.; BARBA, F. J.; WILLIAMS, L. L. Micro and nano-encapsulation of vegetable and essential oils to develop functional food products with improved nutritional profiles. <u>Trends in Food Science & Technology</u>, v. 104, p. 72-83, 2020.
- DINI, I. Contribution of Nanoscience Research in Antioxidants Delivery Used in Nutricosmetic Sector. Antioxidants, v. 11, n. 3, p. 563, 2022.
- DOS SANTOS, P. L.; CENNI, M. F.; COSTA, B. B.; CURY, L. A. β -carotene and oleic acid contributions to the optical properties of amazonic oils. <u>Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry</u>, v. 347, p. 93-97, 2017.
- DUDI, L.; JILLELLAMUDI, N. V.; CHANDA, C.; KANURI, G. Assessment of Quality Parameters in Edible Vegetable Oils. <u>International Journal of Pharmaceutical Investigation</u>, v. 11, n. 3, 2021.
- FILHO, W. E. M.; ALMEIDA-SOUZA, F.; VALE, A. A. M.; VICTOR, E. C.; ROCHA, M. C. B.; SILVA, G. X.; NASCIMENTO, M. D. D. S. B. *et al.* Antitumor Effect of Açaí (Euterpe oleracea Mart.) Seed Extract in LNCaP Cells and in the Solid Ehrlich Carcinoma Model. <u>Cancers</u>, v. 15, n. 9, p. 2544, 2023.
- FORTUOSO, B. F.; GALLI, G. M., DE OLIVEIRA, R. C., SOUZA, C. F., BALDISSERA, M. D., VENDRUSCOLO, R. G.; DA SILVA, A. S. *et al.* Effects of soybean oil replacement by açai oil in laying hen diets on fatty acid profile and egg quality. <u>Animal Feed Science and Technology</u>, v. 263, p. 114452, 2020.

- FRANCISCONI, A. F; CAUZ-SANTOS, L. A.; MARROQUIN, J. A.; van den BERG, C.; ALVES-PEREIRA, A.; DELMONTES DE ALENCAR, L.; PICANÇO-RODRIGUES, D.; ZANELLO, C. A.; COSTA, M. F; LOPES, M. T. G.; VEASEY, E. A.; ZUCCHI, M. I. Complete chloroplast genomes and phylogeny in three *Euterpe* palms (*E. edulis, E. oleracea* and *E. precatoria*) from different Brazilian biomes. <u>PLoS ONE.</u> v. 17, n.7, p.1-26, 2022. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0266304.
- GALATE, R. S. Caracterização e divergência genética em germoplasma de açaizeiro (*Euterpe oleracea Mart.*) do nordeste paraense. 116 f. 2012. Tese (Doutorado em Ciências Agrárias) Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém, 2012.
- GUALBERTO, Larissa da Silva. **Obtenção e caracterização dos óleos obtidos dos frutos Tucumã** (*Astrocaryum vulgare*), **Pupunha** (*Bactris gasipaes*) **e Bacupari** (*Garcinia gardneriana*). 2022. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Universidade Federal do Tocantins, Palmas, 2022.
- GUERRERO-PÉREZ, M. O.; PATIENCE, G. S. Experimental methods in chemical engineering: Fourier transform infrared spectroscopy—FTIR. <u>Can. J. Chem. Eng.</u>, v. 98, n. 1, p. 25-33, 2020.
- GUIMARÃES, S. C. N.; ALVES, D. T. V.; SOUZA, R. B. M.; DA COSTA, C. E. F., DE MELO, K. C.; DE OLIVEIRA, I. S.; DOS SANTOS, O. V. Desenvolvimento de formulações fermentadas probióticas mistas enriquecidas com óleos de frutos amazônicos. <u>Brazilian Journal of Development</u>, v. 6, n. 3, p. 10882-10901, 2020.
- HASSIMOTTO, N.M.A.; GENOVESE, I.S.; LAJOLO, F.M. Antioxidant activity of dietary fruits, vegetables, and commercial frozen fruit pulps. <u>J. Agric. Food Chem.</u>, v.53, p.2928-2935, 2005.
- HE, Y.; DE ARAÚJO JÚNIOR, R. F.; CAVALCANTE, R. S.; YU, Z.; SCHOMANN, T.; GU, Z.; CRUZ, L. J. *et al.* Effective breast cancer therapy based on palmitic acid-loaded PLGA nanoparticles. <u>Biomaterials Advances</u>, v. 145, p. 213270, 2023.
- HEINRICH, M.; DHANJI, T.; CASSELMAN, I. Açai (*Euterpe oleracea* Mart.)—A phytochemical and pharmacological assessment of the species' health claims. Phytochemistry Letters, v. 4, n. 1, p. 10-21, 2011.
- HOSEINI, B.; JAAFARI, M. R.; GOLABPOUR, A.; MOMTAZI-BOROJENI, A. A.; KARIMI, M.; ESLAMI, S. Application of ensemble machine learning approach to assess the factors afecting size and polydispersity index of liposomal nanoparticles. <u>Scientifc</u> <u>Reports</u>, n. 18012, p. 1 11, 2023. <u>https://doi.org/10.1038/s41598-023-43689-4</u>.
- HUANG, L.H.; WANG, B.G. Antioxidant capacity and lipophilic content of seaweeds collected from the Qingdao coastline. <u>Journal of Agricultural and Food Chemistry</u>, v.58, p.4993-4997, 2004.
- IBIAPINA, A.; GUALBERTO, L. D. S.; DIAS, B. B.; FREITAS, B. C. B.; MARTINS, G. A. D. S.; MELO FILHO, A. A. Essential and fixed oils from Amazonian fruits:

- proprieties and applications. <u>Critical Reviews in Food Science and Nutrition</u>, v. 62, n. 32, p. 8842-8854, 2022.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. Brasília: Instituto Adolfo Lutz, 2008, 1020 f.
- JADHAV, R. P.; KOLI, V. W.; KAMBLE, A. B.; BHUTKAR, M. A. A Review on Nanoemulsion. <u>Asian Journal of Research in Pharmaceutical Science</u>, v.10, n. 2, p. 103–108, 2020.
- JAISWAL, M.; DUDHE, R.; SHARMA, P. K. Nanoemulsion: an advanced mode of drug delivery system. 3 Biotech, v. 5, p. 123-127, 2015.
- KANG, J.; THAKALI, K. M.; XIE, C.; KONDO, M.; TONG, Y.; OU, B.; WU, X. *et al.* Bioactivities of açaí (Euterpe precatoria Mart.) fruit pulp, superior antioxidant and anti-inflammatory properties to *Euterpe oleracea* Mart. <u>Food Chemistry</u>, v. 133, n. 3, p. 671-677, 2012.
- KARAMI, Z.; KHOSHKAM, M.; HAMIDI, M. Optimization of olive oil-based nanoemulsion preparation for intravenous drug delivery. <u>Drug research (Stuttgart)</u>, v.69, n. 5, p. 256-264, 2019.
- KAZAZ, S.; MIRAY, R.; LEPINIEC, L.; BAUD, S. Plant monounsaturated fatty acids: Diversity, biosynthesis, functions and uses. <u>Progress in lipid research</u>, v. 85, p. 101138, 2022.
- KENTISH, S., WOOSTER, T. J., ASHOKKUMAR, M., BALACHANDRAN, S., MAWSON, R., & SIMONS, L. The use of ultrasonics for nanoemulsion preparation. <u>Innovative Food Science & Emerging Technologies</u>, v. 9, n. 2, p. 170-175, 2008.
- KIM, H. Y.; PARK, S. S.; LIM, S. T. Preparation, characterization and utilization of starch nanoparticles. <u>Colloids and Surfaces B: Biointerfaces</u>, v. 126, p. 607-620, 2015.
- KIM, J. H.; OH, Y. W.; KIM, D. H.; SEO, B. H.; SUH, H. S.; CHOI, Y. S. A randomized, placebo-controlled trial of gamma linolenic acid as an add-on therapy to minocycline for the treatment of rosacea. Annals of Dermatology, v. 32, n. 6, p. 466, 2020.
- KOROLEVA, M.; NAGOVITSINA, T.; YURTOV, E. Nanoemulsions stabilized by nonionic surfactants: stability and degradation mechanisms. <u>Physical Chemistry Chemical Physics</u>. v. 20, n. 15, p. 10369-10377, 2018.
- KRIS-ETHERTON, P. M.; PEARSON, T. A.; WAN, Y.; HARGROVE, R. L.; MORIARTY, K.; FISHELL, V.; ETHERTON, T. D. High—monounsaturated fatty acid diets lower both plasma cholesterol and triacylglycerol concentrations. <u>Am J Clin Nutr</u>, v. 70, n. 6, p. 1009-1015, 1999.
- LAURINDO, L. F.; BARBALHO, S. M.; ARAÚJO, A. C., GUIGUER, E. L.; MONDAL, A., BACHTEL, G.; BISHAYEE, A. Açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) in health and disease: A critical review. <u>Nutrients</u>, v. 15, n. 4, p. 989, 2023.

- LEVER, T.; HAINES, P.; ROUQUEROL, J.; CHARSLEY, E. L.; VAN ECKEREN, P.; BURLETT, D. J. "ICTAC nomenclature of thermal analysis (IUPAC Recommendations 2014)" <u>Pure and Applied Chemistry</u>, v. 86, n. 4, p. 545-553, 2014.
- LOUREIRO CONTENTE, D. M.; PEREIRA, R. R.; RODRIGUES, A. M. C.; DA SILVA, E. O.; RIBEIRO-COSTA, R. M.; CARRERA SILVA-JUNIOR, J. O. Nanoemulsions of Acai Oil: Physicochemical Characterization for the Topical Delivery of Antifungal Drugs. <u>Chemical Engineering & Technology</u>. v. 43, n. 7, p. 1424–1432, 2020.
- LUANGAPAI, F.; PEANPARKDEE, M.; IWAMOTO, S. Effects of a curcumin nanoemulsion on the physico-chemical properties of chitosan-based films. <u>International Journal of Food Science & Technology</u>, v. 57, n. 1, p. 101-109, 2022.
- LUCAS, B. F.; ZAMBIAZI, R. C.; COSTA, J. A. V. Biocompounds and physical properties of açaí pulp dried by different methods. <u>LWT Food Science and Technology</u>, v. 98, p. 335-340, 2018. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.08.058
- LUIZ, M. T.; VIEGAS, J. S. R.; ABRIATA, J. P.; VIEGAS, F.; DE CARVALHO VICENTINI, F. T. M.; BENTLEY, M. V. L. B.; TAPIA-BLACIDO, D. R. *et al.* Design of experiments (DoE) to develop and to optimize nanoparticles as drug delivery systems. <u>European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics</u>, v. 165, p. 127-148, 2021.
- MACARTHUR, R.; TEYE, E.; DARKWA, S. Quality and safety evaluation of important parameters in palm oil from major cities in Ghana. <u>Scientific African</u>, v. 13, p. 1 13, 2021. https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2021.e00860
- MACIÁN, V.; TORMOS, B.; GARCÍA-BARBERÁ, A.; TSOLAKIS, A. Applying chemometric procedures for correlation the FTIR spectroscopy with the new thermometric evaluation of Total Acid Number and Total Basic Number in engine oils. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems. v. 208, p. 1 28, 2021. https://doi.org/10.1016/j.chemolab.2020.104215
- MACIEL-SILVA, F. W.; BULLER, L. S.; MBB GONÇALVES, M. L.; ROSTAGNO, M. A.; FORSTER-CARNEIRO, T. Sustainable development in the Legal Amazon: energy recovery from açaí seeds. <u>Biofuels, Bioproducts and Biorefining</u>, v. 15, n. 4, p. 1174-1189, 2021.
- MAIA FILHO, M.; DE MACEDO, K. G.; RAMOS, A. L.; RODRIGUEZ, A. F. R. Preparação e caracterização de nanoemulsão dos óleos de *Euterpe precatória* Mart. e *Bertholletia excelsa* Bonp. <u>DELOS: Desarrollo Local Sostenible</u>. 16, n. 45, p. 1847-1860, 2023.
- MALVERN INSTRUMENTS LTD. Dynamic Light Scattering Common Terms Defined Malvern Instruments Limited, 2011. Disponível em: https://www.malvernpanalytical.com/en/products/product-range/zetasizer-range/zetasizer-advance-range? Acesso em: 22 março de 2023.

- MANICKAM, S.; SIVAKUMAR, K.; PANG, C. H. Investigations on the generation of oil-in-water (O/W) nanoemulsions through the combination of ultrasound and microchannel. <u>Ultrasonics sonochemistry</u>, v. 69, p. 105258, 2020.
- MANTOVANI, I. S. B.; FERNANDES, S.B.O.; MENEZES, F.S. Constituintes apolares do fruto do açaí (*Euterpe oleracea* M.—Arecaceae). Revista brasileira de Farmacognosia, v. 13, p. 41-42, 2003.
- MARIYATE, J.; BERA, A. A critical review on selection of microemulsions or nanoemulsions for enhanced oil recovery. <u>Journal of Molecular Liquids</u>, v. 353, p. 118791, 2022. https://doi.org/10.1016/j.molliq.2022.118791
- MASIERO, J. F.; BARBOSA, E. J.; DE OLIVEIRA MACEDO, L.; DE SOUZA, A.; YUKUYAMA, M. N.; ARANTES, G. J.; BOU-CHACRA, N. A. Vegetable oils in pharmaceutical and cosmetic lipid-based nanocarriers preparations. <u>Industrial Crops and Products</u>, v. 170, p. 113838, 2021.
- MATOS, B. F.; DE SOUSA, J. J. A.; FAÇANHA, R. V.; DE SOUSA MOURA, F. N.; HOLANDA, D. X. T. Plantas nativas e a prática da contextualização: uma investigação etnobotânica no ensino de ciências. <u>Revista Insignare Scientia-RIS</u>, v. 4, n. 6, p. 1-21, 2021.
- MATOS, C. B. E.; SAMPAIO, P.; RIVAS, A. A.; MATOS, J. C.; HODGES, D. G. Economic profile of two species of Genus der Euterpe, producers of açaí fruits, from the Pará and Amazonas States-Brazil. <u>International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology</u>, v. 2, n. 4, p. 1822-1828, 2017.
- MATTA, F. V.; XIONG, J., LILA, M. A.; WARD, N. I., FELIPE-SOTELO, M.; ESPOSITO, D. The powerful in vitro bioactivity of Euterpe oleracea Mart. seeds and related phenolic compounds. <u>Industrial Crops and Products</u>, v. 76, p. 318-322, 2015.MATTA, F.V.; XIONG, J.; LILA, M. A.; WARD, N. I.; FELIPE-SOTELO, M.; ESPOSITO, D. Chemical composition and bioactive properties of commercial and non-commercial purple and white açaí berries. <u>Foods</u>, v. 9, n. 10, p. 1481, 2020. DOI: 10.3390/foods9101481.
- MAYER, S.; WEISS, J.; MCCLEMENTS, D. J. Vitamin E-enriched nanoemulsions formed by emulsion phase inversion: factors influencing droplet size and stability. <u>Journal of Colloid and Interface Science</u>, <u>Maryland Heights</u>, v. 402, p. 122-130, 2013.
- McCLEMENTS, D. J. Nanoemulsions versus microemulsions: terminology, differences, and similarities. <u>Soft matter</u>, v. 8, n. 6, p. 1719-1729, 2012.
- McCLEMENTS, D.; DECKER, E.; WEISS, J. Emulsion-Based Delivery Systems for Lipophilic Bioactive Components. <u>Journal of Food Science</u>. V. 72, n. 8, R109 R124, 2007. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2007.00507.x.
- MELO, P. S.; SELANI, M. M.; GONÇALVES, R. H.; DE OLIVEIRA PAULINO, J.; MASSARIOLI, A. P.; DE ALENCAR, S. M. Açaí seeds: An unexplored agro-industrial

- residue as a potential source of lipids, fibers, and antioxidant phenolic compounds. <u>Industrial crops and products</u>, v. 161, p. 113204, 2021.
- MORAES, F. P..; COLLA, L. M. Alimentos funcionais e nutracêuticos: Definições, legislação e benefícios à saúde. <u>Revista Eletrônica de Farmácia</u>, v. 3, n.2. p. 109-122, 2006.
- MORAES-LOVISON, M. Óleo essencial de orégano nanoemulsionado: produção, caracterização físico-química, atividade anti-microbiana e antioxidante in vitro e aplicação em patê de frango. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos Universidade Estadual de São Paulo, Pirassununga, 2017.
- MUSHTAQ, A.; WANI, S. M.; MALIK, A. R.; GULL, A.; RAMNIWAS, S.; NAYIK, G. A.; BARI, A. Recent insights into Nanoemulsions: Their preparation, properties and applications. <u>Food Chemistry X</u>, p. 100684, 2023. DOI: <u>10.1016/j.fochx.2023.100684</u>
- NASCIMENTO, R. J. S. D.; COURI, S.; ANTONIASSI, R.; FREITAS, S. P. Composição em ácidos graxos do óleo da polpa de açaí extraído com enzimas e com hexano. Revista Brasileira de Fruticultura, v. 30, p. 498-502, 2008.
- NEDHI, I. A. Cupressus sempervirens var. horizentalis seed oil: Chemical composition, physicochemical characteristics and utilizations. <u>Industrial Crops and Products</u>, v. 41, p. 381 385, 2013.
- NÉRIS, B. N. P. **Desempenho de açaizeiros** (*Euterpe oleracea* Mart) **em diferentes ambientes e arranjos produtivos em Castanhal-PA.** 2023. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) Universidade Federal Rural da Amazônia, Campus Belém, PA, 2023.
- O'SULLIVAN, J. J.; PARK, M.; BEEVERS, J.; GREENWOOD, R. W.; NORTON, I. T. Applications of ultrasound for the functional modification of proteins and nanoemulsion formation: A review. <u>Food Hydrocolloids</u>, v. 71, p. 299-310, 2017.
- OLIVEIRA, A. E.; DUARTE, J. L.; AMADO, J. R., CRUZ, R. A.; ROCHA, C. F.; SOUTO, R. N.; CARVALHO, J. C. *et al.* Development of a Larvicidal Nanoemulsion with *Pterodon emarginatus* Vogel Oil. <u>PLOS ONE</u>, v.11, n.1, p. 1 16, 2016. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0145835
- OLIVEIRA, A. R.; RIBEIRO, A. E. C.; OLIVEIRA, E. R.; GARCIA, M. C., SOARES JUNIOR, M. S.; CALIARI, M. Structural and physicochemical properties of freeze-dried açaí pulp (*Euterpe oleracea* Mart.). <u>Food Science and Technology</u>, v. 40, p. 282-289, 2019.
- OLIVEIRA, R. F. P. **O Desenvolvimento da biotecnologia industrial nos processos de produção no estado do Amazonas**. 2023. Tese (Doutorado em Biotecnologia) Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2023.

- OLIVEIRA, S. F. Nanoemulsão a base de óleo de semente de *Euterpe oleracea* (Mart.) com atividade frente Aedes aegypti. 2022. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2022.
- OLIVEIRA. U. A. Cadeia produtiva de açaí: extrativismo e os desafios para sustentabilidade no médio Solimões. 2023. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2023.
- PEREIRA, R. R. Obtenção e caracterização de sistemas líquido cristalinos contendo óleo de açaí (*Euterpe oleraceae* Mart.). 2015. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) Universidade Federal do Pará, Belém, 2015.
- PIRES, V. G. A.; MOURA, M. R. Preparação de novos filmes poliméricos contendo nanoemulsões do óleo de melaleuca, copaíba e limão para aplicação como biomaterial. Química Nova, v. 40, n. 1, p. 1-5, 2017.
- POSTAWA, K; FAŁTYNOWICZ, H.; SZCZYGIEŁ, J.; BERAN, E.; KUŁAŻYŃSKI, M. Analyzing the kinetics of waste plant biomass pyrolysis via thermogravimetry modeling and semi-statistical methods. Bioresource Technology, v. 344, p. 126181, 2022.
- PRIOR, R.L.; CAO, G. *In vivo* total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods. <u>Free Radical Biology & Medicine</u>, v.27, n.11/12, p.1173-1181, 1999.
- RAHIM, M. A.; AYUB, H., SEHRISH, A.; AMBREEN, S., KHAN, F. A., ITRAT, N.; ROCHA, J. M. *et al.* Essential components from plant source oils: A review on extraction, detection, identification, and quantification. <u>Molecules</u>, v. 28, n. 19, p. 6881, 2023.
- RAMBO, M. K. D.; RAMBO, M. C. D.; ALMEIDA, K. J. C. R.; ALEXANDRE, G. P. Estudo de análise termogravimétrica de diferentes biomassas lignocelulósicas utilizando a análise por componentes principais. <u>Ciência e Natura</u>, v. 37, n. 3, p. 862-868. Santa Maria, 2015.
- RAO, J.; McCLEMENTS, D. J. Formation of flavor oil microemulsions, nanoemulsions and emulsions: influence of composition and preparation method. J Agric Food Chem.v. 59, n. 9. p. 5026 5035, 2011. DOI: 10.1021/jf200094m
- RIBEIRO, A. R. C.; OLIVEIRA, T. V. de; BAFFA JÚNIOR, J. C.; BASTOS, M. do S. R.; BATISTA, L. F.; TEIXEIRA, S. C. T.; SOARES, N. de F. F. Ultrasound-assisted cinnamaldehyde nanoemulsion: optimization of operational variables, colloidal properties and in-vitro antibacterial activity. Research, Society and Development, v. 11, n. 9, p. e45711932115, 2022.
- RIBEIRO, R. C. D. A.; BARRETO, S. M. D. A. G.; OSTROSKY, E. A.; ROCHA-FILHO, P. A., VERÍSSIMO, L. M.; FERRARI, M. Production and characterization of cosmetic nanoemulsions containing *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill extract as moisturizing agent. <u>Molecules</u>, v. 20, n. 2, p. 2492-2509, 2015.
- RODRIGUEZ, M. B. S.; MEGIAS, S. M.; BAENA, B. N. Alimentos funcionales y nutrición óptima. ¿Cerca o lejos¿ Rev Esp Salud Pública, v. 77, p. 317-331, 2003.

- ROTONDO, A.; LA TORRE, G. L.; DUGO, G., CICERO, N.; SANTINI, A.; SALVO, A. Oleic acid is not the only relevant mono-unsaturated fatty ester in olive oil. <u>Foods</u>, v. 9, n. 4, p. 384, 2020.
- RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ ,J.; SAURA-CALIXTO, F. D. **Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS**. EMBRAPA. Comunicado Técnico on-line nº 127. Fortaleza. 2007. ISSN: 1679-6535.
- RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G. METODOLOGIA CIENTÍFICA: **Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pelo Método de Redução do Ferro (FRAP)**. EMBRAPA. Comunicado Técnico on-line nº 125. Fortaleza. 2006. ISSN: 1679-6535.
- RUFINO, M.S.M.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; ARRANZ, S.; ALVES, R.E.; BRITO, E.S.; OLIVEIRA, M.S.P.; SAURA-CALIXTO, F. Açaí (*Euterpe oleraceae*) 'BRS Pará': a tropical fruit source of antioxidante dietary fiber and antioxidante capacity oil. <u>Research International</u>, v. 44, p. 2100-2106, 2011.
- SADEQ, Z. A. Review on nanoemulsion: Preparation and evaluation. <u>International</u> <u>Journal of Drug Delivery Technology</u>, v. 10, n. 1, p. 187-189, 2020.
- SAID SULIMAN, A.; TOM, R.; PALMER, K.; TOLAYMAT, I.; YOUNES, H. M.; ARAFAT, B.; NAJLAH, M. Development, characterization and stability evaluation of ciprofloxacin-loaded parenteral nutrition nanoemulsions. <u>Pharmaceutical Development</u> and Technology, v. 25, n. 5, p. 579-587, 2020.
- SALES-CAMPOS, H.; REIS DE SOUZA, P.; CREMA PEGHINI, B.; SANTANA DA SILVA, J.; RIBEIRO CARDOSO, C. An overview of the modulatory effects of oleic acid in health and disease. Mini reviews in medicinal chemistry, v. 13, n. 2, p. 201-210, 2013.
- SANCHES, S. C. D. C.; RÉ, M. I., SILVA-JÚNIOR, J. O. C.; RIBEIRO-COSTA, R. M. Organogel of Acai Oil in Cosmetics: Microstructure, Stability, Rheology and Mechanical Properties. <u>Gels</u>, v. 9, n. 2, p. 150, 2023.
- SANDY, A. R.; ZHANG, Q.; LURIO, L. B. Hard x-ray photon correlation spectroscopy methods for materials studies. <u>Annual Review of Materials Research</u>, v. 48, p. 167-190, 2018.
- SANTO, A. P. do E.; SILVA, R. C.; SOARES, F. A. S. M.; ANJOS, D.; GIOIELLI, L. A.; OLIVEIRA. M. N. Açai pulp addition improves fatty acid profile and probiotic viability in yoghurt. <u>International Dairy Journal</u>, v. 20, p. 415–422, 2010.
- SANTOS, H. O. Effect of Açaí (*Euterpe oleracea*) intake on vascular function and lipid profile: what is the recommendation? <u>Int. J. of Cardiovasc. Sci.</u>, v. 32, p. 190-192, 2019.

- SANTOS, J.; MARTINS, V. L. Produção e Otimização do Biodiesel de óleo de bacaba (*Oenocarpus bacaba* Mart.). Revista Multidisciplinar de Educação e Meio Ambiente, v. 2, n. 4, p. 1-8, 2021.
- SANTOS, L. R. Efeito da atividade antioxidante de extratos de bagaços de uvas na estabilidade oxidativa de óleos vegetais. 2021. Tese (Doutorado em Engenharia e Ciência de Alimentos) Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2021.
- SHARMA, A.; AGARWAL, P.; SEBGHATOLLAHI, Z.; MAHATO, N. Functional Nanostructured Materials in the Cosmetics Industry: A Review. <u>ChemEngineering</u>, v. 7, n. 4, p. 66, 2023. <u>https://doi.org/10.3390/chemengineering7040066</u>
- SHARMA, M.; MANN, B.; POTHURAJU, R.; SHARMA, R.; KUMAR, R. Physicochemical characterization of ultrasound assisted clove oil-loaded nanoemulsion: as enhanced antimicrobial potential. <u>Biotechnology Reports</u>, v. 34, p. 1 7, 2022. https://doi.org/10.1016/j.btre.2022.e00720
- SHETH, T.; SESHADRI, S.; PRILESZKY, T.; HELGESON, M. E. Multiple nanoemulsions. <u>Nature Reviews Materials</u>, v. 5, n. 3, p. 214-228, 2020.
- SHEYFER, D.; ZHANG, Q.; LAL, J., LOEFFLER, T.; DUFRESNE, E. M., SANDY, A. R.; STEPHENSON, G. B. Nanoscale critical phenomena in a complex fluid studied by x-ray photon correlation spectroscopy. <u>Physical Review Letters</u>, v. 125, n. 12, p. 125504, 2020.
- SILVA, A. J. B. D.; SEVALHO, E. D. S.; MIRANDA, I. P. D. A. Potencial das palmeiras nativas da Amazônia Brasileira para a bioeconomia: análise em rede da produção científica e tecnológica. Ciência Florestal, v. 31, p. 1020-1046, 2021.
- SILVA, M. P.; CUNHA, V. M. B.; SOUSA, S. H. B.; MENEZES, E. G. O., DO NASCIMENTO BEZERRA, P., DE FARIAS NETO, J. T.; DE CARVALHO JR, R. N. *et al.* Supercritical CO2 extraction of lyophilized Açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp oil from three municipalities in the state of Pará, Brazil. <u>Journal of CO₂ utilization</u>, v. 31, p. 226-234, 2019.
- SILVA, S. M.; RAMOS, P. B.; BUITRAGO, J. R.; DA SILVA, T. V., SIMIÃO, C. S., COLOMBO, G. M.; MONSERRAT, J. M. *et al.* Zootechnical performance, biochemical response, and chromaticity in Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) (Boone, 1931) after the inclusion of lyophilized açaí (*Euterpe oleracea*) in the diet. <u>Aquaculture</u> International, v. 28, p. 1563-1577, 2020. https://doi.org/10.1007/s10499-020-00544-x
- SONG, Y.; CONG, Y.; WANG, B.; ZHANG, N. Applications of Fourier transform infrared spectroscopy to pharmaceutical preparations. <u>Expert opinion on drug delivery</u>, v. 17, n. 4, p. 551-571, 2020.
- SOUKI, N. P. D. B. Avaliação dos aspectos tecnológicos de iogurtes enriquecidos com inulina e emulsão encapsulado com óleo de açaí. 2022. Tese (Doutorado em Ciências) Universidade de São Paulo, Pirassununga-SP, 2022.

- SOUTO, E. B.; CANO, A.; MARTINS-GOMES, C.; COUTINHO, T. E.; ZIELIŃSKA, A.; SILVA, A. M. Microemulsions and nanoemulsions in skin drug delivery. <u>Bioengineering</u>, v. 9, n. 4, p. 158, 2022.
- SOUZA, L. C.; SILVA, E.; BRITO, C. V. D. S. P.; DINIZ, M. C. Prospecção Tecnológica da utilização dos Ácidos Graxos de óleos vegetais na indústria de cosméticos. <u>Cadernos de Prospecção</u>, v. 15, n. 2, p. 541-556, 2022.
- SUHAIMI, S. H. et al. Effects of formulation parameters on particle size and polydispersity index of orthosiphon stamineus loaded nanostructured lipid carrier. <u>Journal of advanced research in applied sciences and engineering technology</u>, v. 1, n. 1, p. 36-39, 2015.
- TARHAN, O.; SPOTTI, M. J. Nutraceutical delivery through nano-emulsions: General aspects, recent applications and patented inventions. <u>Colloids and Surfaces B: Biointerfaces</u>, v. 200, p. 111526, 2021.
- TAVARES, M. S. Fenologia, viabilidade do pólen, emergência de semente e conteúdo de DNA nuclear de açaizeiros (*Euterpe* spp.). 2020. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais e Ambientais) Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2020.
- THAKUR, P.; SONAWANE, S.; POTOROKO, I.; SONAWANE, S. H. Recent advances in ultrasound-assisted synthesis of nano-emulsions and their industrial applications. <u>Current Pharmaceutical Biotechnology</u>, v. 22, n. 13, p. 1748-1758, 2021.
- VALENTE, D. A.; VAZ, M. R. F.; NASCIMENTO, S. C. C.; BRASIL, D. D. S. B.; PINHEIRO, R. O. Síntese e caracterização físico-química de biodiesel metílico do óleo da castanha-do-Pará (*Bertholletia excelsa*). Conjecturas, v. 22, n. 16, p. 1050-1063, 2022.
- VIANNA, S.A. 2020. *Euterpe in* **Flora do Brasil 2020.** Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB15711>. Acesso em: 27 set. 2021.
- WALKER, R. M.; DECKER, E. A.; McCLEMENTS, D. J. Physical and oxidative stability of fish oil nanoemusions produced by spontaneuos emusification: Effect of surfactant concentration and particle size. <u>Journal of Food Engineering</u>, v. 164, p. 10-20, 2015.
- WANG, L.; DONG, J.; CHEN, J.; EASTOE, J.; LI, X. Design and optimization of a new self-nanoemulsifying drug delivery system. <u>Journal of Colloid and Interface Science</u>, Maryland Heights, v. 330, n. 2, p. 443-448, 2009.
- YAMAGUCHI, K. K. L.; PEREIRA, L. F. R.; LAMARÃO, C. V.; LIMA, E. S.; DA VEIGA-JUNIOR, V. F. Amazon acai: Chemistry and biological activities: A review. Food Chemistry, v. 179, p. 137-151, 2015.
- ZHANG, X.; LIAO, X.; GONG, Z.; LI, X.; JIA, C. (2021) Formation of fatty acid methyl ester based microemulsion and removal mechanism of PAHs from contaminated soils. Journal of Hazardous Materials, v. 413, p. 125460, 2021.

ANEXO A - Rótulo da exsicata da palmeira de *Euterpe oleraceae* Mart. do Parque Zoobotânico da UFAC

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE HERBÁRIO

ARECACEAE

N° UFACPZ: 28626

Espécie: Euterpe oleracea Mart. Det status:

Determinado por: Ferreira, E

Rio Branco. Acre-Brasil

Centro Espírita Espírita Beneficente União do Vegetal., Estrada Rodovia BR-363, km 12., próximo da entrada de acesso para a Embrapa-AC., Solo Areno-Argiloso, Área de cultivo.

10.012222222220 S 67.740277777778 W

Palmeira cespitosa, com cerca de 10 m de altura. Frutos maduros de coloração arroxeada colhidos em cachos localizados a cerca de 7 m de altura. Folhas colhidas de perfilhos com cerca de 2 m de altura.

N.V.:

Imada, KS 01 27 /10 /2021

ANEXO B – Artigo publicado na Revista DELOS (Desarrollo Local Sostenible)



Caracterização microbiológica e físico-química de óleos vegetais extraídos de frutos na Amazônia Ocidental – Brasil

Microbiological and physical-chemical characterization of vegetable oils extracted from fruits in the Western Amazon - Brazil

DOI: 10.55905/rdelosv16.n43-030

Recebimento dos originais: 16/05/2023 Aceitação para publicação: 23/06/2023

Katiuscia Shirota Imada

Mestra em Biologia Experimental pela Universidade Federal de Rondônia (UNIR)
Instituição: Universidade Federal do Acre (UFAC)
Endereço: Rio Branco - AC, Brasil
E-mail: katiuscia.imada@ufac.br

Marcelo Ramon da Silva Nunes

Doutor em Biotecnologia Instituição: Instituto Federal do Acre Endereço: Sena Madureira - AC, Brasil E-mail: marcelo.nunes@ifac.edu.br Orcid: https://orcid.org/0000-0002-5100-7865

Anselmo Fortunato Ruiz Rodriguez

Pós-doutor em Nanociências e Nanobiotecnologia Instituição: Universidade Federal do Acre Endereço: Rio Branco - AC, Brasil E-mail: anselmo.rodriguez@ufac.br Orcid: https://orcid.org/0000-0002-3034-183X

César Arruda Meschiari

Doutor em Farmacologia Instituição: Universidade Federal do Acre Endereço: Rio Branco - AC, Brasil E-mail: cesar.mesquiari@ufac.br Orcid: https://orcid.org/0000-0002-6274-8642

Ludimilla da Silva Brandão

Graduada em Química Instituição: Universidade Federal do Acre Endereço: Rio Branco - AC, Brasil E-mail: ludmilla.brandao@ufac.br Orcid: https://orcid.org/0000-0002-6424-1124



Osmar da Silva Torres

Mestre em Ecologia e Manejo de Recursos Naturais Instituição: Universidade Federal do Acre Endereço: Rio Branco - AC, Brasil E-mail: osmars.torres@gmail.com

Guaracy Barbosa dos Santos Maia

Mestre em Engenharia Química Instituição: Universidade Federal do Acre Endereço: Rio Branco, AC, Brasil E-mail: Guaracy.maia@ufac.br

Fernando Sérgio Escócio Drummond Viana de Faria

Doutor em Biotecnologia Instituição: Universidade Federal do Acre Endereço: Rio Branco - AC, Brasil E-mail: fernandoescocio@gmail.com Orcid: https://orcid.org/0000-0002-3262-4470

RESUMO

Os óleos vegetais são importante recurso e merecem destaque pois podem ser utilizados na indústria de alimentos, cosméticos e medicamentos. Foram adquiridos seis tipos de óleos vegetais comercializados no município de Rio Branco – AC, os óleos estudados foram os de açaí, buriti, castanha, coco, patauá e tucumã. Com o intuito de avaliar a qualidade dos óleos vegetais extraídos de frutos oleaginosos comercializados em Rio Branco – AC, foram testadas as características microbiológicas e propriedades físico-químicas dos óleos extraídos de frutos da floresta Amazônica. No geral os óleos apresentaram adequação dentro dos padrões microbiológicos exceto o óleo de coco que teve contagem de bolores e leveduras de 3,6x10³ UFC/mL, acima do especificado pela Farmacopeia Brasileira (Anvisa, 2019), quanto as análises físico químicas os resultados dos índices de acidez foram dentro do permitido pela IN n°87 (Brasil, 2021), já no índice de peróxidos, somente o óleo de patauá apresentou 17,5 meq/kg⁻¹, revelando-se superior a 15, estando fora do padrão da legislação vigente. As amostras dos óleos analisados indicaram bom estado de conservação como também boas condições sanitárias demonstrando a qualidade do produto final.

Palavras-chave: óleos vegetais, açaí, buriti, castanha, coco, patauá, tucumã.

ABSTRACT

Vegetable oils are an important resource and deserve to be highlighted because they can be used in the food, cosmetics and medicine industries. Six types of vegetable oils sold in the city of Rio Branco - AC were purchased, the oils studied were those of açaí, buriti, chestnut, coconut, patauá and tucumã. In order to evaluate the quality of vegetable oils extracted from oleaginous fruits sold in Rio Branco - AC, the microbiological characteristics and physical-chemical properties of oils extracted from fruits of the Amazon forest were tested. In general, the oils were adequate within microbiological standards, except for coconut oil, which had a mold and yeast count of $3.6x10^3$ CFU/mL, above that specified by the Brazilian Pharmacopoeia (Anvisa, 2019), regarding the physical and chemical analyzes, the results of the acidity indexes were within the limits



allowed by IN n°87 (Brasil, 2021), whereas in the peroxide index, only patauá oil presented 17.5 meq/kg-1, proving to be higher than 15, being outside the standard of current legislation. The samples of the oils analyzed indicated a good state of conservation as well as good sanitary conditions, demonstrating the quality of the final product.

Keywords: vegetable oils, açaí, buriti, nut, coconut, patauá, tucumã.

1 INTRODUÇÃO

A Amazônia é detentora de uma rica biodiversidade de plantas e frutos, destaca-se os frutos de oleaginosas, o que representa grande potencial econômico para a região (Saraiva et al., 2009; Gilbert, 1995), estes frutos são capazes de produzir óleos a partir de suas polpas e amêndoas. OS óleos são compostos por ésteres de ácidos graxos de cadeia longa e, também por uma variedade de compostos como carotenoides, tocoferóis e vitaminas (Saraiva et al., 2009; Eldin, 2006).

Estes óleos vegetais podem ser utilizados no desenvolvimento de bioprodutos para a indústria de cosméticos, medicamentos ou alimentos. Além disso, a exploração comercial dos óleos demonstra ser uma opção atrativa, como forma de agregar valor e também busca de alternativas que promovam a exploração renovável e preservação do meio ambiente (Saraiva et al., 2009).

O açaí (*Euterpe oleraceae*) é fruto de uma palmeira nativa da Amazônia, encontrada nos Estados do Amazonas, Amapá, Pará, Maranhão, Rondônia, Acre e Tocantins (Vilaplana et al., 2014; Martinez et al., 2013; Yuyama et al., 2011). O açaí apresenta diversos nutrientes interessantes como alta concentração de lipídeos aproximadamente 40,75%, carboidrato 42,5%±3,56, proteínas 9,13±0,63 em 100 gramas de açaí liofilizado, também possui vitaminas e minerais como cálcio, ferro, magnésio e potássio (Menezes et al., 2008). Os seus frutos e sementes também possuem atividade antioxidante, devido a presença de polifenóis, flavonoides e antocianinas. Devido a presença de lipídeos, o açaí é rico em ácido graxos monoinsaturados (MUFA) e poli-insaturados (PUFA) (Nascimento et al., 2008; Rufino et al., 2007; Schauss et al., 2006) sendo os majoritários o ácido linoleico, oleico e palmítico (Menezes et al., 2008), demonstrando interessante para aplicação nutracêutica.

O buriti (*Mauritia flexuosa*) é o fruto de uma das maiores palmeiras da floresta amazônica. É encontrada em florestas de várzeas, também encontrado às margens de rios, lagos



e açudes. Da polpa dos frutos podem ser produzidos doces, sucos e vinhos, do creme do fruto pode ser extraído o óleo, com uso na estética, terapêutico e atividade antioxidante, apresenta alto teor de vitamina A (Lorenzi et al., 2004; Carvalho et al., 2011; Cândido et al., 2015). O buriti é considerado uma fonte importante de tocoferóis, carotenoides e ácidos graxos, e destes cerca de 73% a 78% é composto pelo ácido graxo oleico

A castanheira do Brasil (*Bertholletia excelsa*) é uma árvore símbolo da Amazônia pela sua importância econômica, social e ecológica. A castanha do Brasil devido ao seu alto teor lipídico com cerca de 60% da sua composição, tem atraído o interesse de indústrias para produção de óleo, quanto ao seu perfil ácidos graxos, estudos revelam que cerca de 47,78% a 37,58% são compostos por ácido oleico, 41,23 a 24,65% de ácido linoleico, 11,13 a 6,33 de ácido esteárico e 3,58 a 028% de ácido linolênico.

O coco (*Cocos nucifera*) é firuto de uma palmeira exótica de fácil adaptação e cultivo na maioria dos continentes. Seu óleo apresenta propriedades medicinais, com atividade anti-inflamatória, analgésica e antipirética (Intahphuak et al., 2010). O óleo é composto de diversos ácidos graxos, onde predominam os triglicerídeos de cadeia média, com 86,5% de ácidos graxos saturados, 5,8% de ácidos graxos monoinsaturados e 1,8% poli-insaturado. Os ácidos graxos saturados se dividem em 44,6% é composto por ácido láurico, 16,8% de ácido mirístico e 8,2% de ácido palmítico. O único ácido graxo monoinsaturado é representado pelo ácido oleico e único poli-insaturado o ácido linoleico (Arlee et al., 2013).

O patauá (*Oenocarpus bataua*) é fruto de uma palmeira que apresenta preferência por locais úmidos, frequente nos Estados do Acre, Amazonas, Pará, Rondônia e parte da região Centro-Oeste. Da sua polpa é extraído o óleo, muito utilizado na alimentação, semelhante ao azeite de oliva, podendo apresentar-se como líquido amarelo esverdeado ou transparente (Darnet et al., 2011). O óleo de patauá apresenta como majoritários o ácido oleico (77,7%) e palmítico (13,3%), também possui o ácido linoleico (2,7%), ácido esteárico (3,6%), ácido palmitoleico (0,6%) e ácido ∞-linoleico (0,6%) (Montufar et al., 2010).

O tucumã (*Astrocaryum aculeatum*) também é fruto de uma palmeira encontrada no Acre, Amazonas, Pará e Rondônia. Os frutos são amarelos ou alaranjados, usados na alimentação humana e de animais. Seu óleo apresenta-se rico em precursor de vitamina A, quanto ao perfil lipídico o óleo apresenta 74,4% de ácidos graxos insaturados e 25,6% de saturados (Nazário & Ferreira, 2010; de Souza Filho & Sagrillo, 2013). De acordo com Vasconcelos (2010) foi



observado o seguinte perfil lipídico do óleo de tucumã 38,7% de ácido oleico, 33,9% de ácido esteárico, 22,7% de ácido palmítico, 1,5% de ácido araquídico, 1,2% de ácido linolênico, 0,9% de ácido linoleico e 0,3% de ácido palmitoleico.

O presente estudo teve o objetivo de avaliar as características microbiológicas e propriedades físico-químicas de diversos óleos vegetais extraídos de frutos oleaginosos da floresta amazônica adquiridos no comércio de Rio Branco – AC.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os óleos vegetais foram adquiridos no comércio de Rio Branco - AC, os óleos utilizados foram de açaí, buriti, castanha, coco, patauá e tucumã. Após a compra foram armazenados em geladeira a 10° C.

Foram realizadas as análises microbiológicas, análises físico-química e cromatografia gasosa dos óleos vegetais adquiridas.

Inicialmente foram realizadas as diluições. Foram pesadas 25 g de cada óleo, solubilizado em 225 mL de água peptonada tamponada (APT), onde correspondeu à primeira diluição 10^{-1} e a partir desta, realizou as demais diluições 10^{-2} e 10^{-3} , a partir destas foram feitas as determinações de microrganimos mesófilos, presença de bolores e leveduras e pesquisa de coliformes.

A partir das diluições 10⁻¹, 10⁻² e 10⁻³, foi inoculado 1 mL de cada diluição em placas de petri contendo Plate Count Agar - Ágar Padrão para Contagem (PCA), estas foram incubadas a 36 °C por 48 h. A pesquisa foi realizada em triplicata.

Para esta determinação da presença de bolores e leveduras foi utilizado o Agar Dchoran Rose Bengal Clorafenicol (DRBC) em placas de petri, adicionou-se 1 mL das diluições 10⁻¹, 10⁻², e 10⁻³, foram incubadas a 25 °C por 5 dias. Foram realizadas triplicatas.

Para a pesquisa de coliformes foram inoculados $1~\mathrm{mL}$ das diluições 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} em 3 tubos de ensaio contendo caldo lactosado com tubos de Duran invertidos para cada diluição, foram incubados em $35~\mathrm{^{\circ}C}$ por até $48~\mathrm{h}$.

As análises físico-química, foram divididas em parâmetros físicos compostos por índice de refração e densidade. Ambos realizados de acordo com a metodologia do Instituto Adolfo Lutz (2008).



Para determinação do índice de refração utilizou-se o refratômetro de Abbé. No prisma foi adicionado algumas gotas das amostras de óleos vegetais, a seguir o prisma foi fechado e travado firmemente por cerca de 1 a 2 minutos. Foi realizada a leitura do índice de refração absoluto a 40°C, por três vezes e calculado a média.

A densidade dos diversos óleos fora determinada pelo uso de picnômetro com capacidade de 5 mL, previamente calibrado, limpo e seco. Foi transferido 5mL de cada amostra para o picnômetro, e conferido a temperatura. A massa das amostras fora obtida através da diferença de massa do picnômetro cheio e vazio. A densidade relativa é igual a razão entre a massa da amostra líquida e a massa da água, ambas na mesma temperatura. O ensaio foi feito em triplicata.

Os parâmetros químicos foram o índice de acidez, índice de peróxidos, índice de saponificação, Índice de Iodo pelo método de Wijs adaptado ao uso de ciclohexano.

O índice de acidez foi obtido para todos os óleos vegetais pela titulação de hidróxido de potássio (KOH), seguindo a metodologia do Instituto Adolfo Lutz (2008). Para realização da titulação foram pesados 2 gramas das amostras dos óleos vegetais em frasco de 125 mL, adicionou 25 mL de solução de éter álcool (2:1) neutra, 2 gotas de indicador de fenolftaleína, titulou com solução de hidróxido de sódio a 0,1 N até o aparecimento de coloração rósea. Foram realizados em triplicata.

O índice de peróxidos foi encontrado pela titulação de solução de tiossulfato de sódio 0,01 N, pela aplicação da metodologia do Instituto Adolfo Lutz (2008). Para realizar a determinação do índice de peróxidos foram pesados 5 g dos diversos óleos em erlenmeyer de 125 mL, em seguida foi adicionado 30 mL da solução ácido acético – clorofórmio (3:2) e agitouse até a dissolução da amostra. Adicionou-se 0,5 mL da solução saturada de iodeto de potássio (KI) e deixou em repouso ao abrigo da luz por um minuto. Rapidamente acrescentou-se 30 mL de água destilada e titulou-se com solução de tiossulfato de sódio 0,01 N, com agitação constante, a titulação foi realizada até que a coloração amarela desapareça. Adicionou-se 0,5 mL de solução indicadora de amido (1%) e continuou-se a titulação até o completo desaparecimento da coloração azul. Uma prova em branco foi realizada concomitantemente da mesma maneira descrita acima, porém sem a adição de 2 g do óleo. Os procedimentos foram realizados em triplicada.

Para a realização da determinação do índice de saponificação foi pesado 2 g do óleo de cada amostra em balança analítica em um erlenmeyer de 250 mL, onde foi adicionado 20 mL de



solução alcoólica de hidróxido de potássio a 4%. O 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 o 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, 2008). Os procedimentos foram feitos em triplicata.

A metodologia para detecção do índice de iodo pelo método de Wijs aplicada foi a do Instituto Adolfo Lutz (2008) adaptado ao uso de ciclohexano. Inicialmente foram pesadas 0,25 gramas das amostras, transferidas para um Erlenmeyer de 500 mL, em seguida adicionou-se 20 mL da solução de Wijs, os frascos foram tampados e agitados para homogeneização e, deixado reservado no escuro por 25 minutos, após este tempo, adicionou-se 20 mL de iodeto de potássio e 100 mL de água destilada. Foi realizada a titulação com solução de tiossulfato de sódio 0,1 até a cor amarela quase desaparecer (coloração amarela fraca), adicionar 2 mL de amido 1%, continuar a titulação até o desaparecimento da cor azul. Foi preparada também a prova em branco sem adição de óleo. Os procedimentos foram realizados em triplicata.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a Tabela 1, na pesquisa de coliformes não houve crescimento de coliformes totais e coliformes a 45 $^{\circ}$ C nas amostras estudadas, apresentando conformidades com a RDC 12, de 02 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001).

Na Tabela 1, a Contagem Padrão em Placas (CPP) revelou presença de microrganismos mesófilos nos óleos de açaí, buriti, castanha, coco, patauá e tucumã, nestas amostras foi possível observar desenvolvimento de $6x10^1$, 3, $3x10^2$, 1, $4x10^2$, 4, $36x10^4$ e 10^2 UFC/mL, respectivamente e, no óleo de castanha não houve desenvolvimento de microrganismos mesófilos. A Farmacopeia Brasileira (apresenta como padrão 10^3 UFC/mL para bolores e leveduras e 10^5 UFC/mL para CPP para microrganismos mesófilos aeróbios (ANVISA, 2019).

Na contagem de bolores e leveduras na Tabela 1, somente no óleo de coco apresentou crescimento com contagem de 3,6x10³ UFC/mL. Desta maneira está acima do padrão estabelecido pela Farmacopeia Brasileira (ANVISA, 2019).



A análise microbiológica dos óleos vegetais fornece dados sobre as condições de coleta, extração e armazenamento tanto da matéria-prima quanto do modo de preparo e estocagem do óleo vegetal. Esses microrganismos fermentadores com os fungos e leveduras podem alterar as características físico-químicas dos óleos vegetais e também causar danos aos usuários (Rodríguez-Goméz et al., 2013).

Tabela 1. Resultados das avaliações da qualidade microbiológica dos óleos de açaí, buriti, castanha, coco, patauá e

tucumã.						
Óleos	Coliformes NMP/mL	CPP UFC/mL	Bolores e Leveduras UFC/mL			
Açaí	0	$6x10^{1}$	0			
Buriti	0	$3,3x10^2$	0			
Castanha	0	0	0			
Coco	0	$1,4x10^2$	$3,6x10^3$			
Patauá	0	$4,36x10^4$	0			
Tucumã	0	10^{2}	0			

Fonte: Autores (2023)

A acidez de um óleo ocorre devido a reação hidrolítica dos triacilgliceróis, assim é uma variável relacionada à natureza e qualidade da matéria-prima, ao processamento e às condições de conservação do produto final (Moretto & Fett, 1999). Elevado índice de acidez pode ser indicativo de processamento insatisfatório, estocagem inadequada, manipulação imprópria, entre outros (ANVISA, 2019). As reações hidrolíticas causam alterações sensoriais no óleo, como diferença na cor e odor, e consequentemente nos derivados deste óleo (Ferreira et al., 2008; Silva et al., 2009; Nehdi, 2013; Walia et al., 2014).

De acordo com a IN n°87, de 15 de março de 2021 (BRASIL, 2021) que estabelece padrões máximos de índice de acidez até 4 mg KOH g^{-1} .

Os valores encontrados estão demonstrados na Tabela 2, o índice de acidez do óleo de açaí de1,85 mg KOH g⁻¹, 3,48 mg KOH g⁻¹ para os óleos de buriti, 3,51 mg KOH g⁻¹ para castanha, óleo de coco 3,59 mg KOH g⁻¹, 3,71 mg KOH g⁻¹ para patauá e 2,78 mg KOH g⁻¹ para óleo de tucumã, desta maneira podemos observar que todos óleos avaliados apresentaram valores abaixo de 4 mg KOH g⁻¹, considerado o padrão estabelecido pela IN nº 87 de 15 de março de 2021 da ANVISA (BRASIL, 2021).

Os valores encontrados de índice de acidez para o óleo de açaí foram semelhantes aos encontrados por Pereira et. al. (2017) de 2,79 mg KOHg⁻¹, considerando outros autores como



Silva e Rogez (2013), Alves et al. (2015) e Castro et al. (2021) que detectaram valores muitos inferiores de 0,46, 0,42 e 0,4 mg KOHg⁻¹, respectivamente.

Considerando o óleo de buriti, Alves et al. (2015) detectaram 0,701 mg KOH g^{-1} de índice de acidez e, Moura et al. (2019) encontraram valor ainda menor de 0,22 mg KOH g^{-1} , já Soares et al. (2021) observaram valores de 2,04 a 3,16 mg KOH g^{-1} , dados bem semelhantes ao nosso trabalho.

Quando ao índice de acidez do óleo de castanha, (Schons et al., 2017) encontrou índice de acidez de 2,57 mg KOHg⁻¹ bem semelhando ao presente estudo.

Alves et al. (2015) identificou 3,09 mg KOH g⁻¹ de índice de acidez em óleo de coco e 1,37 mg KOH g⁻¹ em óleo de tucumã, ambos resultados semelhantes ao nosso estudo.

Em se tratando de valores na Tabela 2 para índice de peróxidos encontrou-se 8,25 meq/kg⁻¹ para o óleo de açaí, 2,27 meq/kg⁻¹ para buriti, 4,31 meq/kg⁻¹ para castanha, 1 meq/kg⁻¹ para coco, 17,5 meq/kg⁻¹ para patauá e 10,53 meq/kg⁻¹ para óleo de tucumã, somente e o óleo de patauá apresentou valor maior que 15 meq/kg⁻¹ e não está dentro do valor recomendado pela IN nº 87 de 15 de março de 2021 (ANVISA, 2021) de preconiza para índice de peróxidos de até 15 meq/kg⁻¹ para óleos vegetais prensados a frio não refinados.

Comparando com os resultados de índice de peróxidos do óleo de açaí do presente estudo com os de Silva e Rogez (2013) e Alves et al. (2015), nestes dois estudos apresentaram menores valores, de 1,26 meqkg⁻¹ e 1 meqkg⁻¹, respectivamente. Mas ambos dentro dos padrões recomendados pela IN nº 87 de 15 de março de 2021 (ANVISA, 2021).

O índice de peróxido do óleo de buriti foi semelhante ao estudo de Soares et al. (2021) com valores de 1,68 a 2,44 meqkg⁻¹ e, menor que os estudos de Alves et al (2015) e Moura et al. (2019) com valores de 4 meqkg⁻¹ e 6,2 meqkg⁻¹ respectivamente.

O índice de peróxido do óleo de castanha encontrado foi semelhante à pesquisa de Schons et al. (2017) com valor de $5,74~{\rm meq}{\rm Kg}^{-1}$.

O óleo de patauá no referido trabalho apresentou maiores valores e divergem de Alves et al. (2015) que encontrou $8~{\rm meq}{\rm Kg}^{-1}$ e Santos et al. (2019) apontou $9,64~{\rm meq}{\rm Kg}^{-1}$ para o índice de peróxido para o óleo de patauá analisado.

Já o estudo de Alves et al. (2015) se apresentou muito mais elevado com 26 meqKg⁻¹ para índice de peróxido para óleo de coco e 22 meqKg⁻¹ para índice de peróxidos para óleo de tucumã quando comparado ao nosso trabalho.



De acordo com Ribeiro e Seravalli (2004), a reação de saponificação pode indicar o grau de deterioração e estabilidade, de forma a verificar se as propriedades dos óleos estão de acordo com as especificações e identificar possíveis fraudes e adulterações com substância insaponificáveis como óleo mineral.

Os valores de índice de saponificação apresentado na Tabela 2 foram bem semelhantes entre os resultados encontrados para os óleos estudados, 180,95 mg KOH g⁻¹ para óleo de açaí, 182,72 mg KOH g⁻¹ para buriti, 182,68 mg KOH g⁻¹ para o óleo de castanha, 189,51 mg KOH g⁻¹ para coco, 181,54 mg KOH g⁻¹ para patauá e 193,98 mg KOH g⁻¹ para óleo de tucumã.

O valor encontrado para o índice de saponificação de óleo de açaí foi semelhante a Silva e Rogez (2013) com175,69 mgKOH g $^{-1}$ e foi superior a Alves et al. (2015) com 104,6 mgKOH g $^{-1}$.

Quanto ao resultado do óleo de buriti foi próximo aos valores encontrados por Soares et al. (2021) de 139,23 a 193,36 mgKOH g⁻¹, quando comparado a Moura et. al. (2019) e Alves et al. (2015) com 147,06 mgKOH g⁻¹ e 101 mgKOH g⁻¹.

O índice de saponificação para o óleo de castanha foi similar ao identificado por Schons et al. (2017) com $191,62 \text{ mgKOH g}^{-1}$.

Em comparação aos índices de saponificação dos óleos de coco, patauá e tucumã observou distanciamento aos valores encontrados com Alves et al. (2015) que foram de 132,4 mgKOH g⁻¹, 97,6 mgKOH g⁻¹e 149,8 mgKOH g⁻¹ respectivamente.

A densidade é influenciada pelo grau de insaturação dos ácidos graxos, quanto menor o peso molecular mais alto será o grau de insaturação (Walia et al., 2014; Moretto & Fett, 1999).

Como é possível verificar na Tabela 2, a densidade apresentou-se igual para os óleos de buriti, castanha e tucumã 0,86 g cm⁻³ a 24 °C, para óleo de açaí foi detectado 0,83 g cm⁻³ a 24 °C, 0,88 g cm⁻³ a 24 °C para óleo de coco e 0,84 g cm⁻³ a 24 °C para óleo de patauá.

Comparando o resultado da densidade do óleo de açaí, foi semelhante aos estudos de Pereira et al. (2017) com 0,897 g cm⁻³, Alves et al. (2015) 0,83 g cm⁻³ e Silva e Rogez (2013) 0,893 g cm⁻³ óleo açaí, já Castro et al. (2021) foi inferior ao nosso trabalho.

Assim também foi observado na densidade do óleo de buriti e de castanha, o valor detectado foi inferior a Moura et al. (2019) 0,909 g cm⁻³, Alves et al. (2015) 0,91 g cm⁻³ e Schons (2017) com 0,9165 g cm⁻³.



Dados semelhantes ocorreu com a densidade do óleo de coco e de tucumã, com 0,86 g cm⁻³ e 0,85 g cm⁻³ respectivamente. Já o óleo de patauá apresentou menor densidade quando comparado ao estudo de Pereira (2017) com valor de 0,91 g cm⁻³ e Alves et al. (2015) 0,96 g cm⁻³.

Nos óleos vegetais, o índice de refração é usado como critério de qualidade no controle de processos de hidrogenação de óleos insaturados e identidade (Cecchi, 2003).

Na Tabela 02, o índice de refração foram os mesmos valores, de 1,46 para óleos de açaí, buriti, castanha, patauá e tucumã e para óleo de coco de 1,45.

O índice de refração do óleo de açaí encontrado foi semelhante aos estudos de Silva e Rogez (2013), Alves et a. (2015) e Pereira et al. (2017), 1,481, 1,467 e 1,465 respectivamente.

Para os resultados dos demais óleos foram semelhantes aos encontrados por Alves et al. (2015) 1,4665, 1,4650, 1,4670, 1,4565 para óleos de buriti, coco, patauá e tucumã respectivamente. E também ao dado detectado por Schons et al. (2017) para óleo de castanha do Brasil.

Tabela 2. Resultado da avaliação físico-química dos óleos de açaí, buriti, castanha, coco, patauá e tucumã.

Óleos	Índice de Acidez mg KOH g ⁻¹	Índice de peróxidos meg/kg ⁻¹	Índice de saponificação KOH g ⁻¹	Densidade g cm ⁻³ a 24 °C	Índice de refração
Açaí	1.85±0.61	8,25±0,003	180.95±0.73	0,83±0,01	1.46
Buriti	3.48±0.06	2,27±0,42	182,72±0,38	0.86±0.01	1.46
Castanha	3,51±0,16	4,31±1,26	181,68±3,01	0.86 ± 0.02	1,46
Coco	$3,59\pm0,37$	$1,0\pm0,21$	189,51±0,37	$0,88\pm0,01$	1,45
Patauá	$3,71\pm0,48$	$17,5\pm006$	181,54±0,81	$0,84\pm0,01$	1,46
Tucumã	$2,78\pm0,09$	$10,53\pm0,53$	193,98±0,26	$0,86\pm0,01$	1,46

Fonte: Autores (2023)

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Dada a grande riqueza da biodiversidade da Amazônia, os óleos vegetais podem ser boa alternativa para a indústria de alimentos, cosméticos e medicamentos. É importante estudos da qualidade microbiológica e físico-química para garantir a segurança da matéria-prima, dos óleos estudados o óleo de coco apresentou contaminação acima do permitido, quanto aos dados físico-químico apenas o óleo de patauá apresentou acima do permitido para o índice de peróxidos.



REFERÊNCIAS

Alves, W. F., Souza, M. C., Almeida, A. N. S., Oliveira, S. S., & Ribeiro, I. L. R. (2011). Características físico-químicas de óleos essenciais de plantas da região do Vale do Juruá. *Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer*, 11(22), 534–546.

Arlee, R., Suanphairoch, S., & Pakdeechanuan, P. (2013). Differences in chemical components and antioxidant-related substances in virgin coconut oil from coconut hybrids and their parents. *Int Food REs J*, 20(5), 2103-2109.

Cândido, T. L. N., Silva, M. R., & Agostini-Costa, T. S. (2015). Bioactive compounds and antioxidant capacity of buriti (Mauritia flexuosa L.f.) from the Cerrado and Amazon biomes. *Food Chemistry*, 177, 313–319. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.01.041

Carvalho, C. O., Scudeller, V. V., Sargentini Júnior, E., Fernandes, O. C. C., & Bolson, M. A. (2011). Características físicas, químicas e rendimento de óleo de buriti (Mauritia flexuosas L.f. - Arecaceae). Em E. N. Santos-Silva, V. V. Scudeller, & M. J. Cavalcanti (Orgs.), BioTupé: Meio Físico, Diversidade e Sociocultural do Baixo Rio Negro, Amazônia /central (Vol. 3). Santos-Silva.

Castro, R. C. de, Costa, L. F. S., Costa, L. M. D. de A. da, & Martins, G. B. C. (2021). Extração e análise de propriedades físico-químicas do óleo de açaí (Euterpe oleraceae Mart.). 10. Cecchi, H. M. (2003). Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos (2º ed rev). Campinas, UNICAMP, 207 p.

Darnet, S. H., Silva, L. H. M. da, Rodrigues, A. M. da C., & Lins, R. T. (2011). Nutritional Composition, Fatty Acid and Tocopherol Contents of Buriti (Mauritia Flexuosa) and Patawa (Oenocarpus Bataua) Fruit Pulp from the Amazon Region. *Ciência e Tecnol. Aliment*, 31(2), 488–491.

de Souza Filho, O. C., & Sagrillo, M. (2013). The in vitro genotoxic effect of Tucuma (Astrocaryum aculeatum), an Amazonian fruit rich in carotenoids. *J Med Food*, 16 Nov(11), 1013–1021. https://doi.org/10.1089/jmf.2012.0287

Ferreira, E. S., Lucien, V. G., Amaral, A. S., & Silveira, C. S. (2008). Physicochemical characterization of the fruit and oil extracted from tucuman (Astrocaryum vulgare Mart.). *Alim. Nutr.*, 19(4), 427–433.

Gilbert, B. (1995). Economic plants of the Amazon. Em P. SEIDL, O. R. Gottlieb, & M. A. Kaplan (Orgs.), *Chemistry of the Amazon: Biodiversity, Natural Products and Environmetal Issues.* (p. 19–33). ACS Symposium.

Instituto Adolfo Lutz. (2008). Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos (4º ed). 1 ed. Digital.São Paulo. 1020 p.

Instrução Normativa (IN) nº 87, 15 de março de 2021, Estabelece a lista de espécies vegetais autorizadas, as designações, a composição de ácidos graxos e os valores máximos de acidez e de índice de peróxidos para óleos e gorduras vegetais, Brasil (2021), Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

Intahphuak, S., Khonsung, P., & Panthong, A. (2010). Anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activities of virgin coconut oil. *Pharmaceutical Biology*, 48(2), 151–157. https://doi.org/10.3109/13880200903062614



Lorenzi, H., Souza, H. M., Madeiros-Costa, J. T., Cerqueira, L. S. C., & Ferreira, E. (2004). *Palmeiras Brasileiras e Exóticas Cultivadas*. Nova Odessa: Plantarum.

Martinez, E. J. L., Córdova, F., Barrales, P. O., & Medina, A. R. (2013). Characterization and comparison of the chemical composition of exotic superfoods. *Microchemical Journal*, 110, 444–451.

Menezes, E. M. S., Torres, A. T., & Srur, A. U. S. (2008). Valor nutricional da polpa de açaí (Euterpe oleracea Mart) liofilizada. *Acta Amazonica*, *38*, 311–316. https://doi.org/10.1590/S0044-59672008000200014

Montufar, R., Laffargue, A., Pintaud, J.-C., Avallone, S. H. S., & Dussert, S. (2010). Oenocarpus bataua Mart. (Arecaceae): Rediscovering a source of high oleic vegetable oil from Amazonia. *Journal of the American Oil Chemisty's Society*, 87, 167–172. https://doi.org/. https://doi.org/10.1007/s11746-009-1490-4

Moretto, E., & Fett, R. (1998). Definição de óleos e gorduras tecnologia de óleos e gorduras vegetais na indústria de alimentos. Varela.

Moura, C. V. R., Silva, B. C., CASTRO, A. G., Moura, E. M., Veloso, M. E. C., Sittolin, I. M., & Araujo, E. C. E. (2019). Caracterização físico-química de óleos vegetais de oleaginosas adaptáveis ao Nordeste Brasileiro com potenciais para produção de biodísel. *Rev. Virtual Quim*, 11(3), 573–595. https://doi.org/DOI: 10.21577/1984-6835.20190044

Nascimento, R. J. S., Couri, S., Antoniassi, R., & Freitas, S. P. (2008). Composição em ácidos graxos do óleo de açaí extraído com enzimas e com hexano. *Rev. Bras. Frutic*, *30*(2), 498–502. Nazário, P., & Ferreira, S. A. D. N. (2010). Emergência de plântulas de Astrocaryum aculeatum G. May. Em função da temperatura e do período de embebição das sementes. *Acta Amazonica*, *40*(1), 165–170.

Nehdi, I. A. (2013). Cupressus semprervirens var. Horizentalis seed oil: Chemical composition, physicochemical characteristics and utilizations. Industrial. *Industrial Crops and Products*, 41(1), 381–385.

Pereira, G. S., Basso, S. L., Freitas, P. M, Lima, D. A., & Machado, A. S. (2017). Caracterização físico-química e cromatográfica dos óleos de açaí (Euterpe precatoria), patauá (Oenocarpus batauá) e coção (Attalea tessmanii). 57° Congresso Brasileiro de Química, Gramado, Rio Grande do Sul. Resolução RDC n°12, de 02 de janeiro de 2001 (2001), aprova o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológico para Alimentos, ANVISA (Agência de Vigilância Sanitária) (2001). http://portal.anvisa.gov.br

Ribeiro, E. P., & Seravalli, A. A. G. (2004). *Química de alimentos*. São Paulo: Edgar Blücler. Instituto Mauá de Tecnologia.

Rodríguez-Goméz, F., Bautista-Gallego, J., Romero-Gil, V., Arroyo-López, F. N., & Garrido-Fernández, A. G. (2013). Influence of yeasts on the oil quality indexes of Table Olives. *J Food Sci*, 78(8), 1208–1217. https://doi.org/10.1111/1750-3841.12190. PMID: 23957409

Rufino, M. do S. M., Alves, R. E., Brito, E. S., Morais, S. M., Sampaio, C. de G., Jimenez, J. P., & Calixto, F. D. S. (2007). Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH e ABTS. *Metodologia Científica*. *EMBRAPA*.



- Santos, O. V. dos, Gonçalves, B. S., Macêdo, C. da S., Conceição, L. R. V. da, Costa, C. E. F., Monteiro Júnior, O. V., Souza, A. L. G. de, & Lannes, S. C. da S. (2020). Evaluation of quality parameters and chromatographic, spectroscopic, and thermogravimetric profile of Patauá oil (Oenocarpus bataua). *Food Science and Technology*, 40(suppl 1), 76–82. https://doi.org/10.1590/fst.01619
- Saraiva, S. A., Cabral, E. C., Eberli, M. N., & Catharino, R. R. (2009). Amazonian Vegetable Oils and Fats: Fast Typication and Quality Control via Triacylglycerol (TAG) Profiles from Dry Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight (MALDI-TOF) Mass Spectrometry Fingerprinting. *J. Agric. Food Chem*, 57, 4030–4034. https://doi.org/DOI: 10.1021/jf900043u
- Schauss, A. G., Wu, X., Prior, R. L., Ou, B., Patel, D., Huang, D., & Kababick, J. P. (2006). Phytochemical and nutrient composition of the freeze-dried amazonian palm berry, Euterpe oleraceae mart. (Açaí). *J Agric Food Chem*, 54(22), 8598–8603. https://doi.org/10.1021/jf060976g.
- Schons, J. I., Fiori, K. P., Ribeiro, E. B., Andrighetti, C. R., Nogueira, R., & Valladão, D. M. de S. (2017). Extração assistida por ultrassom e caracterização do óleo de castanha-do-Brasil (Bertholletia excelsa H.B.K). *Interciencia*, 42(9), 586–590.
- Silva, J. J. M. da, & Rogez, H. (2013). Avaliação da estabilidade oxidativa do óleo de açaí (Euterpe oleraceae) na presença de compostos fenólicos puros ou de extratos vegetais amazônicos. Avaliação da estabilidade oxidativa do óleo de açaí (Euterpe oleraceae) na presença de compostos fenólicos puros ou de extratos vegetais amazônicos, 36, 400–406.
- Silva, S. M., Sampaio, K. A., Taman, T., Rocco, S. A., Ceriani, R., & A., M., A. J. (2009). Characterization of oil extracted from buriti (Mauritia flexuosa) grown in the brazilian region. *Journal American Oil Chemistry Society*, 86, 611–616.
- Soares, J. F., Borges, L. A., Brandi, I. V., Santos, S. H. S., & Lima, J. P. de. (2021). Caracterização do óleo de buriti produzido no Norte de Minas Gerais: Parâmetros de qualidade, perfil de ácidos graxos e conteúdo de carotenoides. *Research, Society and Development, 10*(3), e58010313734. https://doi.org/10.33448/rsd-v10i3.13734
- Vasconcelos, B. E. C. (2010). Avaliação das características físicas, químicas e nutricionais dos óleos do tucumã (Astrocaryum aculeatum e Astrocaryum vulgare) obtidos com CO2 pressurizado [Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos)]. Universidade Federal do Pará.
- Vilaplana, A. G., Baenas, N., Villaño, D., Speisky, H., García-Viguera, C., & Moreno, D. A. (2014). Evaluation of Latin-American fruits rich in phytochemicals with biological effects. *Journal of Functional Foods*, 7, 599–608.
- Walia, M., Rawat, K., Bhushan, S., Padwad, Y. S., & Singh, B. (2014). Fatty acid composition, physicochemical properties, antioxidante and cytotoxic activity of apple seed oil obtained from apple pomace. *J Sci Food Agric*, 94, 929–934.
- Yuyama, L. K. O., Aguiar, J. P. L., Filho, D. F. S., Yuyama, K., Varejão, M. J., Fávaro, D. I. T., Vasconcellos, M. B. A., Pimentel, S. A., & Caruso, M. S. F. (2011). Caracterização físico-química do suco de açaí de Euterpe precatoria Mart. Oriundo de diferentes ecossistemas amazônicos. *Acta Amazonica*, 41(4), 545–552.

ANEXO C – Participação em Eventos



