



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

MARCILENE PAIVA DA SILVA

**EXTRAÇÃO SUPERCRÍTICA DA POLPA LIOFILIZADA DE AÇAÍ (*Euterpe*
oleracea Mart.): DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS E**
SOLUBILIDADE

BELÉM/PA

2021

MARCILENE PAIVA DA SILVA

**EXTRAÇÃO SUPERCRÍTICA DA POLPA LIOFILIZADA DE AÇAÍ (*Euterpe
oleracea* Mart.): DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS E
SOLUBILIDADE**

Tese de doutorado apresentada para
obtenção do título de doutora ao
Programa de Pós-Graduação em Ciência
e Tecnologia de Alimentos da
Universidade Federal do Pará – UFPA.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Raul Nunes de Carvalho Júnior

COORIENTADORA: Prof^a. Dra. Marilena Emmi Araújo.

BELÉM/PA

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com
ISBD Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará
Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo(a)
autor(a)

S586e SILVA, Marcilene Paiva.
EXTRAÇÃO SUPERCÍTICA DA POLPA LIOFILIZADA
DE AÇAÍ (Euterpe oleracea Mart.): DETERMINAÇÃO
DE COMPOSTOS BIOATIVOS E SOLUBILIDADE :
CO₂
Supercrítico / Marcilene Paiva SILVA. — 2021.
87 f. : il. color.

Orientador(a): Prof. Dr. Raul Nunes de Carvalho
Júnior Carvalho
Coorientação: Prof^a. Dra. Marilena Emmi Araújo
Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Pará, Instituto de
Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Ciência e
Tecnologia de Alimentos, Belém, 2021.

1. Açaí (Euterpe oleracea), extração com
CO₂ supercrítico, compostos bioativos. I. Título.

CDD 600

MARCILENE PAIVA DA SILVA

EXTRAÇÃO SUPERCRÍTICA DA POLPA LIOFILIZADA DE AÇAÍ (*Euterpe oleracea* Mart.): DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS E SOLUBILIDADE

BANCA EXAMINADORA

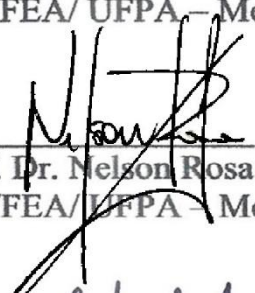


Prof. Dr. Raul Nunes de Carvalho Júnior
(PPGCTA/FEA/UFPA – Orientador)

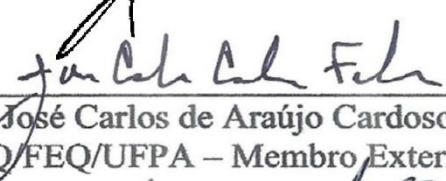
Prof^a. Dra. Marilena Emmi Araújo
(PPGEQ/FEQ/UFPA – Coorientadora)



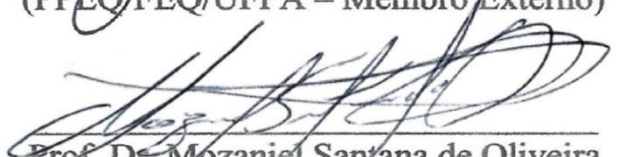
Prof^a. Dra. Alessandra Santos Lopes
(PPGCTA/FEA/UFPA – Membro Interno)



Prof. Dr. Nelson Rosa Ferreira
(PPGCTA/FEA/UFPA – Membro Interno)



Prof. Dr. José Carlos de Araújo Cardoso Filho
(PPEQ/FEQ/UFPA – Membro Externo)



Prof. Dr. Mozaniel Santana de Oliveira
(PPGBOT/MPEG/UFRA – Membro Externo)

BELÉM/PA

2021

*Dedico ao meu companheiro de todas as horas, que contribuiu decisivamente para que este trabalho pudesse ser concluído:
Meu esposo!*

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu Grandioso Deus por tudo o que Ele Fez e Faz por mim. Por ter me dado a oportunidade de viver e condições favoráveis para realização de mais um trabalho.

Ao meu esposo, Sivanildo Soares de Castro, por todo apoio que tem me dedicado desde a graduação e pela compreensão durante a realização desta tese.

A minha Co-orientadora, Prof^{ta}. Dra. Marilena Emmi Araújo, pelos ensinamentos e pelo apoio, minha imensa gratidão. És para mim um grande exemplo profissional.

Ao meu orientador, Prof^o. Dr. Raul Nunes de Carvalho Júnior, que durante a realização deste trabalho tive a oportunidade de trabalhar e aprender com seus conhecimentos.

Aos meus amigos do laboratório (LABEX) que me ensinaram quando eu não sabia e me auxiliaram em alguns experimentos.

A CAPES pelo apoio financeiro e concessão de bolsa.

RESUMO

O presente estudo traz resultados relacionados ao uso do CO₂ supercrítico para a obtenção do óleo da polpa liofilizada de açaí. Durante o período deste trabalho, foram realizadas análises dos compostos bioativos e a predição da solubilidade do óleo em CO₂ supercrítico de três municípios do estado do Pará, Brasil: Anajás, Chaves e Saracá e as extrações foram realizadas nessas condições: 50 °C/350 bar, 60 °C/420 e 70 °C/490 bar. Neste estudo foram determinados os teores de compostos bioativos presentes na polpa antes e após a extração e os maiores rendimentos do óleo em massa (57,06%) foram obtidos para a localidade de Chaves. Com base na composição de ácidos graxos foram previstos os teores de triglicerídeos presentes no óleo e os principais TAGs previstos, foram OOO, POO, OLiO, PLiO e POP e a previsão da solubilidade mostraram o mesmo comportamento dos rendimentos globais que aumentaram à medida que a pressão e a temperatura aumentaram. Além disso, após as extrações, houve um aumento das concentrações de compostos bioativos e da capacidade antioxidante na polpa liofilizada do açaí de todos os municípios. A polpa liofilizada dos frutos do açaizeiro (*Euterpe oleracea* Mart.) dos três municípios também foram submetidas a uma avaliação de sua estrutura morfológica pelo os métodos de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia de Energia Dispersiva de raios-X (EDS), o qual apresentaram forma e tamanho irregulares das partículas da polpa e presença dos elementos químicos oxigênio, potássio e cálcio. Em relação aos parâmetros de cor da polpa liofilizada a coordenada a* apresentou valores positivos, indicando que as amostras tendem ao roxo, o ângulo de tonalidade °Hue, mostrou uma certa tendência a faixa de cor entre o vermelho e roxo. Os resultados do perfil de minerais mostraram que os minerais Ca e o Mg da polpa das três regiões estudadas foram os minerais encontrados em abundância, com concentrações que variaram de 4951,55 µg/g a 5540,41 µg/g.

PALAVRAS-CHAVE: Açaí (*Euterpe oleracea*), extração com CO₂ supercrítico, compostos bioativos.

ABSTRACT

The present study brings results related to the use of supercritical CO₂ to obtain oil from the freeze-dried açai pulp. During the period of this work, analyzes of bioactive compounds and prediction of oil solubility in supercritical CO₂ were carried out in three municipalities in the state of Pará, Brazil: Anajás, Chaves and Saracá, and extractions were carried out under these conditions: 50 °C/350 bar, 60 °C/420 and 70 °C/490 bar. In this study, the levels of bioactive compounds present in the pulp before and after extraction were determined and the highest yields of oil in mass (57.06%) were obtained for the locality of Chaves. Based on the fatty acid composition, the levels of triglycerides present in the oil were predicted and the main predicted TAGs were OOO, POO, OLiO, PLiO and POP and the solubility prediction showed the same behavior of the global yields that increased as the pressure and temperature increased. Furthermore, after the extractions, there was an increase in the concentrations of bioactive compounds and in the antioxidant capacity in the lyophilized açai pulp from all municipalities. The lyophilized pulp of the fruits of the açai palm (*Euterpe oleracea* Mart.) from the three municipalities was also submitted to an evaluation of its morphological structure by the methods of Scanning Electron Microscopy (SEM) and X-ray Energy Dispersive Spectroscopy (EDS), which showed irregular shape and size of the pulp particles and presence of the chemical elements oxygen, potassium and calcium. Regarding the color parameters of the lyophilized pulp, the a* coordinate showed positive values, indicating that the samples tend to purple, the hue angle °Hue showed a certain tendency to the color range between red and purple. The results of the mineral profile showed that the minerals Ca and Mg from the pulp of the three regions studied were the minerals found in abundance, with concentrations ranging from 4951.55 µg/g to 5540.41 µg/g.

KEY WORDS: Açai (*Euterpe oleracea*), extraction with supercritical CO₂, bioactive compounds.

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| 1. INTRODUÇÃO | 11 |
| 2. OBJETIVOS DA PESQUISA | 13 |
| 2.1. Objetivo Geral | 13 |
| 2.2. Objetivos específicos | 13 |
| 3. REVISÃO DA LITERATURA | 14 |
| 3.1. Compostos Bioativos | 14 |
| 3.2. Açai (<i>Euterpe oleracea</i> Mart.) | 15 |
| 3.2.1. Aspectos Gerais..... | 15 |
| 3.2.2. Composição Química do Açai..... | 16 |
| 3.3. Métodos de Extração | 18 |
| 3.3.1. Extração com Fluido Supercrítico | 19 |
| 3.3.2. Fluidos Supercríticos | 19 |
| 3.3.3. Tipos de Fluidos | 21 |
| 3.3.4. Parâmetros que Influenciam no Processo de Extração Supercrítica | 22 |
| 3.3.5. Processo de Extração Supercrítica | 24 |
| 3.4. Rendimento Global (X₀) | 25 |
| 4. MATERIAIS E MÉTODOS | 28 |
| 4.1. Produtos Químicos | 28 |
| 4.2. Açai (<i>Euterpe oleracea</i> Mart.) Amostras | 28 |
| 4.3. Amostras da Polpa Liofilizada de Açai (PLA) | 28 |
| 4.4. Procedimentos de Extração: CO₂-SE | 29 |
| 4.5. Composição de Ácidos Graxos do Óleo de Açai | 30 |
| 4.6. Índices de Qualidade Nutricional de Lipídios | 30 |
| 4.7. Predição da Provável Composição de Triglicerídeos (TGs) do Óleo de Açai | 31 |
| 4.8. Predição da Solubilidade do Óleo de Açai em CO₂ Supercrítico | 31 |
| 4.9. Compostos Fenólicos Totais (CFT) e Antocianinas Totais em PLA Antes e Depois de CO₂-SE | 32 |
| 4.10. Capacidade Antioxidante em PLA Antes e Depois de CO₂-SE | 33 |
| 4.11. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS) | 34 |
| 4.12. Parâmetros de Cor | 34 |
| 4.13. Composição Mineral da Polpa de Açai | 34 |
| 4.14. Análise Estatística dos Resultados | 35 |
| 5. RESULTADOS E DISCUSSÕES | 36 |

| | | |
|-------------|--|-----------|
| 5.1. | Caracterização da matéria prima | 36 |
| 5.2. | Rendimento global..... | 36 |
| 5.3. | Composição de ácidos graxos do óleo de açaí | 37 |
| 5.4. | Qualidade funcional | 39 |
| 5.5. | Prováveis TGs de composição do óleo de açaí | 40 |
| 5.6. | Solubilidade prevista do óleo de açaí em CO₂ supercrítico..... | 42 |
| 5.7. | Concentrações de CFT e antocianinas na polpa de açaí antes e depois de CO₂-SE. | 43 |
| 5.8. | Capacidade antioxidante in vitro da polpa de açaí antes e após CO₂-SE..... | 46 |
| 5.9. | Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS), Parâmetros de Cor e Composição Mineral da Polpa de Açaí..... | 48 |
| 6. | CONCLUSÃO | 52 |
| 7. | REFERÊNCIAS | 54 |
| | TRABALHOS PUBLICADOS..... | 64 |
| | ANEXO | 84 |

1. INTRODUÇÃO

Açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) é um fruto da palmeira da família Arecaceae, e é encontrada principalmente em terrenos de várzea na região Amazônica. O suco de açaí, é a bebida consumida pela a maioria da população amazônica. No estado do Pará, onde mais de 90% do açaí é produzido, as pessoas tradicionalmente o consomem com farinha, acompanhado ou não de um outro alimento. Em outros estados brasileiros e países, os consumidores preferem o açaí processado em misturas com banana, guaraná, leite condensado e cereais (YUYAMA et al., 2011; OLIVEIRA & SCHWARTZ, 2018).

Na composição dos frutos, existem cerca de 90 substâncias bioativas, incluindo os flavonóides (31%) que dentro desta classe estão as antocianinas (9%), os quais têm sido relacionados a propriedades antioxidantes, antiinflamatórias, antiproliferativas e cardio-protetoras (YAMAGUCHI et al., 2015; CARVALHO et al., 2017; OLIVEIRA & SCHWARTZ, 2018; COSTA et al., 2018). As principais antocianinas encontradas no açaí: cianidina-3-rutinosídeo e cianidina-3-glucosídeo apresentam alta capacidade antioxidante e evitam a formação de radicais livres. Estudos apontam que um consumo regular de açaí pode ajudar a prevenir o surgimento de cânceres e doenças inflamatórias (COSTA et al., 2018; VASCONCELOS et al., 2019). Os frutos do açaizeiro também são ricos em carboidratos, fibras, vitamina E, proteínas, minerais e ácidos graxos essenciais, entre eles Ômega 6 e 9 lhe conferem considerável valor energético comparável a do azeite de oliva (LOBO & VELASQUE, 2016; FOSCOLOU et al., 2018).

Em virtude do elevado interesse na obtenção desses compostos químicos benéficos, a comunidade científica vem desenvolvendo tecnologias de extração por fracionamento e isolamento de compostos de alto valor agregado a partir de matrizes alimentares garantindo um máximo rendimento dos concentrados bioativos, adequando as demandas do processamento industrial e garantindo um produto final alimentício (ALVAREZ et al., 2019). Entre as várias técnicas conhecidas, a extração com fluido supercrítico (SFE) é uma alternativa ecologicamente correta para a extração de compostos bioativos que envolvem o uso de um gás acima de sua temperatura e pressão críticas (DE MELO et al., 2014). O dióxido de carbono supercrítico (Sc-CO₂) é o mais utilizado nesta tecnologia e tem temperatura e pressão críticas mais baixas (31,1 °C e 73,8 bar) do que outros solventes supercríticos, não é tóxico, não inflamável, não poluente, pode ser recuperável, barato e inerte. Algumas das vantagens das extrações com Sc-CO₂ são que

os compostos extraídos não sofrem alteração química durante a operação, e além disso, a composição do extrato pode ser modificada alterando os parâmetros do processo (pressão, temperatura e vazão). O CO₂ supercrítico (Sc-CO₂) por apresentar uma baixa polaridade tem uma limitação de dissolver moléculas polares. Portanto, em muitos casos é necessário modificar a polaridade do fluido pela adição de um cossolvente para melhorar extração e aumentar os rendimentos devido à natureza polar dos compostos naturais (MUKHOPADHYAY, 2000; GOYENECHÉ et al. 2018; PEREIRA et al. 2013; ALVAREZ et al., 2019).

A seletividade do processo de extração supercrítica, depende diretamente de parâmetros que influenciam no processo como a densidade, temperatura, pressão, vazão e solubilidade. O parâmetro solubilidade é um dos principais fator na extração supercrítica e é altamente dependente da pressão, temperatura e da densidade do fluido. Quando se refere à pressão na maioria dos componentes em fluidos supercríticos aumenta com o aumento da densidade do fluido, aumentando assim seu poder solvente ou sua capacidade de solubilização. Outro aspecto importante que influenciam na solubilidade dos fluidos é a temperatura, que influencia as propriedades do solvente, a densidade e também as propriedades do soluto, principalmente a pressão de vapor. Essa dupla influência na solubilidade atende a compensação desses dois efeitos opostos (BRUNNER, 1994; BRUNNER, 2005; DE MELO et al, 2014; CORNELIO-SANTIAGO et al. 2017).

Com base nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar os constituintes elementares por meio da estrutura morfológica da polpa liofilizada de açaí e obter extratos em compostos bioativos empregando o processo de extração com o fluido supercrítico, analisar a polpa em termos de compostos bioativos antes e após da extração. Além disso, analisar as variáveis do processo de extração para obter um rendimento favorável nas determinadas condições operacionais e estimativa de medidas de solubilidade para a otimização do processo.

2. OBJETIVOS DA PESQUISA

2.1. Objetivo Geral

Avaliar o óleo em compostos bioativos a partir da extração com fluido supercrítico da polpa liofilizada de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.), com o objetivo de obter um produto em termos de compostos bioativos antes e após a extração. Além disso, avaliar as variáveis do processo como o rendimento global, prever a solubilidade do óleo de açaí em CO₂ supercrítico e analisar alguns constituintes da polpa do fruto de açaí após liofilização.

2.2. Objetivos específicos

- Determinar as isotermas de rendimento global com CO₂ supercrítico;
- Determinar e avaliar o perfil de ácidos graxos por cromatografia gasosa dos extratos;
- Estudar os índices de qualidade funcional do óleo;
- Determinar os compostos fenólicos totais, antocianinas totais e atividade antioxidante da polpa liofilizada de açaí antes e depois da extração;
- Estudar os parâmetros do processo a partir da previsão da solubilidade do óleo em Sc-CO₂ usando a equação de estado cúbica de Peng-Robinson (PR);
- Prever a composição em triglicerídeos do óleo extraído;
- Analisar as estruturas morfológicas e as microanálises elementares da polpa liofilizada de açaí, pelas técnicas de MEV e de EDS;
- Analisar os parâmetros de cor e a composição em minerais da polpa liofilizada

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1. Compostos Bioativos

Os compostos bioativos são fitoquímicos presentes em alimentos e são capazes de modular processos metabólicos, contribuindo nos benefícios à saúde humana. Em geral, esses compostos são encontrados principalmente em alimentos vegetais, como frutas, legumes e verduras (CARBONELL-CAPELLA et al., 2014). Estes compostos presentes nos alimentos exibem efeitos benéficos como ação antioxidante, a sua ação é proteger as células sadias do organismo, amenizando os danos cumulativos que podem desencadear doenças como o câncer, cardiovasculares e entre outras (SANTOS et al., 2008; BASTOS et al., 2009; SHAHIDI & AMBIGAIPALAN, 2015; SHINWARI & RAO, 2018).

Para este estudo é interessante destacar os grupos dos compostos fenólicos, pois são fitoquímicos secundários distribuídos de forma presente na maioria dos tecidos vegetais, incluindo frutas e vegetais. Esses compostos possuem inúmeras propriedades bioativas e, embora não sejam nutrientes, a ingestão na dieta fornece efeitos protetores à saúde por serem potentes antioxidantes naturais capazes de inibir ou reduzir a formação de radicais livres o que causa o desenvolvimento de várias doenças (SILVA et al., 2010; MARTINS et al., 2016; TSIMOGLIANNIS & OREOPOULOU, 2019; DE LA ROSA et al. 2019). Por esta razão, os compostos fenólicos, têm sido investigados para usos benéficos sobre efeitos positivos de doenças crônicas como doenças cardiovasculares, câncer, obesidade e diabetes (CAROCHO & FERREIRA, 2013; IRONDI et al., 2015; NASCIMENTO et al., 2018).

Um dos compostos que pertencem ao grupo dos fenólicos são o flavonoides que tem em sua estrutura C6-C3-C6 como por exemplo as antocianidinas, encontradas em frutas e nos vegetais, apresentando variações, tais como a glicosilação como no caso das antocianinas, um dos grupos de pigmentos de maior distribuição no reino vegetal (FENNEMA, p. 599, 2010; ZHENG et al., 2019).

3.2. Açai (*Euterpe oleracea* Mart.)

3.2.1. Aspectos Gerais

O açai (*Euterpe oleracea* Mart.) é um fruto típico e popular da região amazônica, que nos últimos anos ganhou um grande destaque devido aos benefícios à saúde, associados a sua composição química e a capacidade antioxidante (PORTINHO et al., 2012; LOBO & VELASQUE, 2016). O Brasil é o principal produtor, consumidor e exportador do açai. Esse fruto é comercializado e consumido pela população local nas regiões produtoras do Estado do Pará (HOMMA & FRAZÃO, 2002; MENEZES et al., 2008; TAVARES & HOMMA, 2015).

As palmeiras atingem mais de 25 metros de comprimento, com troncos de 9 a 16 centímetros de diâmetro, os frutos (Fig. 1) são caroços de forma arredonda (diâmetro de cerca de 12 mm) e associado em cachos são colhidos principalmente entre os meses de julho e dezembro. As sementes representam cerca de 85% do volume do fruto. O epicarpo é uma camada fina e o mesocarpo é de 1-2 mm de espessura de cor violeta comestível (POMPEU et al., 2009; WYCOFF et al 2015).

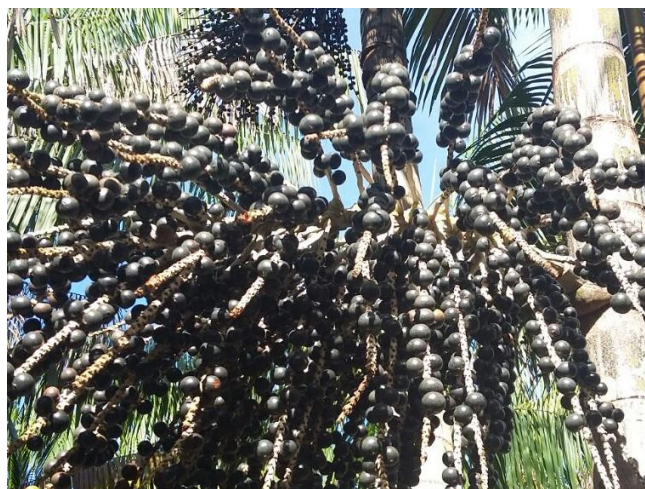


Figura 1 - Açai (*Euterpe oleracea* Mart.). (Foto tirada no município de Tomé-Açu, nordeste paraense).

Existem dois períodos de produção de açai que se caracterizam por produzirem frutos de qualidades diferentes. A safra de inverno é aquela cujo período é o primeiro semestre do ano (estação das chuvas), época em que os cachos apresentam frutos de maturação não uniforme, além de produzir um açai com paladar diferente do normal (MENEZES, 2005). Já a safra de verão (estação mais seca) é aquela cuja produção gira em torno do segundo semestre e se caracteriza por apresentar frutos com maturação

uniforme e de melhor paladar. É quando a bebida se apresenta com melhor qualidade e rendimento (FREGONESI et al., 2010).

Hoje em dia, o açaí é amplamente utilizada pela população local para produzir suco e para a extração do palmito, dois importantes produtos econômicos da Amazônia, especialmente no estado do Pará (OLIVEIRA et al., 2015). Além disso, este fruto é visto como um alimento benéfico a saúde devido as suas propriedades ricas em proteínas, minerais, ácidos graxos essenciais e as antocianinas que são as responsáveis pela coloração e atividade antioxidante antiinflamatórias, antiproliferativas e cardio-protetoras (PALÁCIO et al., 2008; TONON et al., 2009; HEINRICH et al., 2011; MONGE-FUENTES et al., 2017).

3.2.2. Composição Química do Açaí

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 oléico seguido de ácido linoléico (9,72%), os ácidos graxos saturados principais são ácido palmítico (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 (NASCIMENTO, et al., 2008; SANTO et al., 2010).

O açaí possui quantidades elevadas (45 mg/100 g em relação a matéria seca) de vitamina E (tocoferóis), na forma de α -tocoferol e de β -sitosterol com valores máximos de 78% do total de esteróis encontrados no açaí (ROGEZ, 2000; NASCIMENTO, et al., 2008). Além disso, é também fonte de minerais como, potássio, magnésio, cálcio, fósforo e sódio, além das vitaminas E e B. Nesse contexto, é possível afirmar que a composição do açaí tem alto potencial como alimento funcional (MENEZES et al., 2008; SOUZA et al., 2011; OLIVEIRA & SCHWARTZ, 2018).

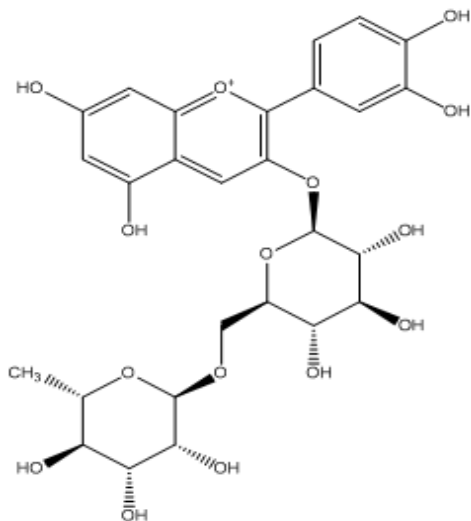
A presença de flavonoides também contribui com a bioatividade do açaí, principalmente as antocianinas. As principais antocianinas encontradas na polpa do açaí são representadas pela cianidina-3-glucosídeo, cianidina-3-rutinosídeo (GALLORI et al., 2004; BRITO et al., 2007; PACHECO-PALENCIA et al., 2007; MOURA & RESENDE, 2015), e em pequenas quantidades perlagonidina-3-glucosídeo (DEL POZO-INSFRAN

et al., 2004), cianidina-3-sambiosídeo, peonidina-3-glucosídeo, peonidina-3-rutinosídeo (LICHTENTHÄLER et al., 2005; CRUZ, 2008; SCHAUSS et al., 2006).

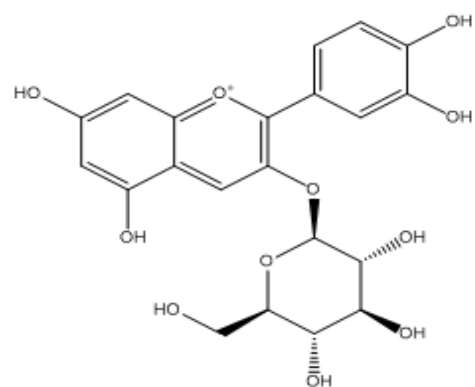
Existe uma prevalência das cianidinas entre as antocianinas e é a mais predominante descoberta em muitas frutas e vegetais e, no açaí as mais representativas são as cianidina-3-rutinosídeo com 97,2% e a cianidina-3-glucosídeo com 98,9% (Figura 2) (GOUVÊA et al. 2012; BOLDT et al., 2014). No entanto, é importante ressaltar a estabilidade, bem como a funcionalidade dessas substâncias, pois dependem em grande parte da sua estrutura química, temperatura, pH e intensidade de luz. Em particular, a temperatura é relatada como um dos principais fatores que afetam a estabilidade das antocianinas. Além disso, as antocianinas mostram uma maior estabilidade no meio ácido do que nos meios alcalinos (CAVALCANTI et al., 2011; SUI et al., 2019).

A funcionalidade desses pigmentos está ligada a uma série de benefícios para a saúde, pois possui uma alta capacidade antioxidante que evitam a formação de radicais livres e, devido a essas propriedades as antocianinas podem ajudar a prevenir o surgimento de cânceres e doenças inflamatórias (FRAGOSO & PRADO, 2012; XIE et al., 2012, COSTA et al, 2018).

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.



cianidina-3-rutinosídeo



cianidina-3-glucosídeo

Figura 2 - Estrutura das antocianinas majoritárias no açaí.

3.3. Métodos de Extração

No contexto do estudo de extração de produtos naturais, os problemas econômicos e ambientais aumentaram nas últimas décadas devido ao grande volume de resíduos gerados nas indústrias. A extração é o primeiro passo para a obtenção de produtos naturais bioativos a partir de matérias-primas vegetais que podem ser extraídos por várias tecnologias de extração e solventes, dependendo de sua distribuição na matriz vegetal e propriedades químicas (BONFIGLI et al., 2017).

A extração convencional, requer tempos de extração prolongados e grandes quantidades de solvente como por exemplo a extração por Soxhlet (VELIČKOVIĆ et al., 2017). Portanto, várias novas técnicas de extração têm sido empregadas para a extração de compostos bioativos, incluindo extração assistida por ultrassom (TAO et al., 2014), extração assistida por micro-ondas (VALDÉS et al., 2015) e extração com fluido supercrítico (MENESES et al., 2015).

Segundo Tao et al. 2014, a extração por ultrassom tem sido eficaz em relação a extração convencional, pois não causa danos ao meio ambiente, é segura e barata, além disso o aumento do contato entre o soluto-solvente durante o processo pode aumentar o rendimento da extração em um pequeno período de tempo. A extração assistida por

micro-ondas também tem suas vantagens sobre as técnicas convencionais como o uso de pouco solvente, pouco consumo de energia, tem uma boa reprodutibilidade, curto período de extração e manipulação mínima da amostra para o processo (VALDÉS et al., 2015). Portanto, a extração por ultrassom depende da aplicação de uma frequência usual de 20 a 100 MHz causando uma compressão e expansão e produzindo assim o fenômeno chamado cavitação. Por outro lado, a extração por micro-ondas depende do uso de frequência variando entre de 300 MHz a 300 GHz, criando um aquecimento uniforme através do meio sobre seu impacto direto no material extraído (VELIČKOVIĆ et al., 2017). Ao contrário das técnicas descritas, a extração por fluido supercrítico utiliza o CO₂ como solvente, além disso o processo é não-tóxico, não são utilizados solventes orgânicos poluentes e a extração é seletiva (MENESES et al., 2015).

3.3.1. *Extração com Fluido Supercrítico*

A extração com fluido supercrítico é uma extração onde o solvente líquido usual é substituído por um fluido supercrítico, ou seja, uma substância em condições de temperatura e pressão acima do ponto crítico e tem propriedades físico-químicas intermediárias entre gases e líquidos. A tecnologia de fluido supercrítico é uma das alternativas à extração com solvente verde, especialmente nos setores alimentícios e farmacêuticos apresentando um produto final isento de resíduos indesejáveis e de boa qualidade, devido as suas características e das condições de extração para obtenção de compostos bioativos (REVERCHON & DE MARCO, 2006; PEREIRA & MEIRELES, 2010; BHUSNURE et al., 2015; BALLESTEROS-VIVAS et al., 2018).

3.3.2 *Fluidos Supercríticos*

Segundo Brunner (2005), um componente puro é considerado como um fluido supercrítico quando seus valores de temperatura e pressão estão acima da sua temperatura crítica (T_c) e pressão crítica (P_c) e que não há mudanças de propriedades do componente. O ponto que limita a região onde não há distinção entre as fases de líquido e vapor e que não há mais calor latente de vaporização é denominado ponto crítico ou estado crítico que representa a maior temperatura e pressão em que a substância pode existir como vapor e líquido em equilíbrio, as quais são características para cada substância (NETZ & ORTEGA, 2002; ATKINS, 2003). Este fenômeno pode ser facilmente explicado com referência ao diagrama de fase do dióxido de carbono puro (Figura 3).

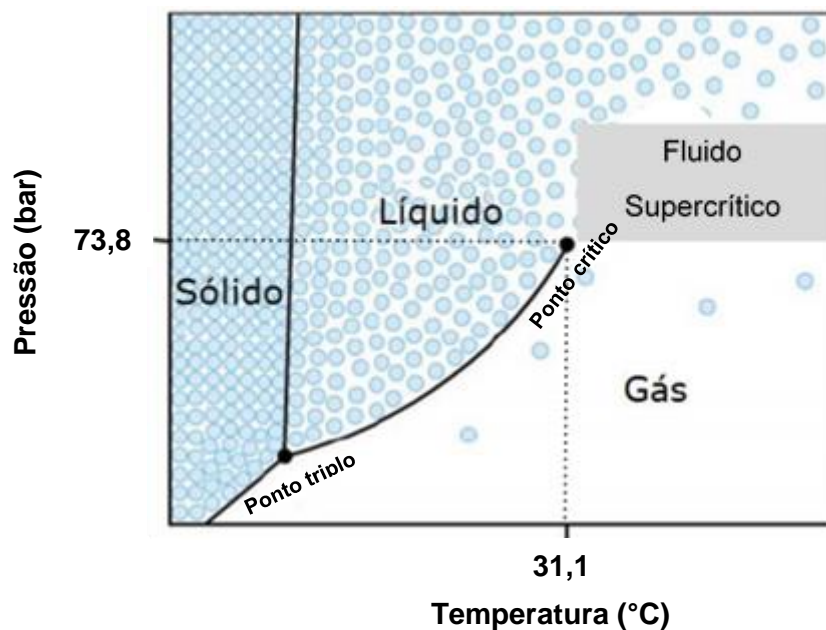


Figura 3- Diagrama de fases P-T para uma substância pura.
 Fonte: adaptado de COOPER (2000).

As propriedades físicas de um fluido supercrítico são intermediárias entre um gás e um líquido típicos, apresentam viscosidade baixa como a de um gás, alta densidade como os líquidos e difusão intermediária entre gases e líquidos, variando com a sua densidade. Além disso, mudanças de temperatura e pressão além de seus pontos críticos também modificam principalmente a densidade, alterando efetivamente as capacidades do solvente e permitindo a obtenção de um alto grau de seletividade (SÁNCHEZ-CAMARGO et al., 2014; BALLESTEROS-VIVAS et al., 2018). A Tabela 1 apresenta um comparativo de algumas características físico-químicas dos gases, líquidos e fluidos supercríticos.

Tabela 1 - Faixas de valores de propriedades características de gases, líquidos e fluidos supercríticos.

| Estado do fluido | Densidade (g/cm³) | Difusividade (cm²/s) | Viscosidade (g/cm/s) |
|--------------------------------------|---|--|---------------------------------|
| <i>Gás</i> | | | |
| P=1 atm; T=15-30 °C | (0,6-2,0)×10 ⁻³ | 0,1–0,4 | (0,6-2,0)×10 ⁻⁴ |
| <i>Líquido</i> | | | |
| P=1 atm; T=15-30 °C | 0,6-1,6 | (0,2-2,0)×10 ⁻⁵ | (0,2-3,0)×10 ⁻² |
| <i>Fluido Supercrítico</i> | | | |
| P=P _c ; T≈T _c | 0,2-0,5 | 0,7×10 ⁻³ | (1-3)×10 ⁻⁴ |
| P=4P _c ; T≈T _c | 0,4-0,9 | 0,2×10 ⁻³ | (3-9)×10 ⁻⁴ |

Fonte: BRUNNER, 2005.

3.3.3. Tipos de Fluidos

Diversos compostos já foram estudados como solventes em processos de extração supercrítica de produtos naturais, devido a dependência da solubilidade de certos solutos utilizando parâmetros como a pressão, temperatura e densidade melhorando a seletividade do composto de interesse na extração. Entretanto, a maioria deles, devido à toxicidade, reatividade, possibilidade de explosão, dano ao meio ambiente, alto custo ou condições supercríticas extremas não chegou a ser adotada como solvente de escolha (MAUL et al., 1996; SMITH, 1999; MUKHOPADHYAY, 2000). A Tabela 2 apresenta as propriedades críticas dos principais compostos já analisados como solventes supercríticos.

Tabela 2 - Propriedades críticas de algumas substâncias empregadas como solventes em processos de extração supercrítica.

| Fluido | T_c (°C) | P_c (bar) | D_c (g/cm³) |
|------------------|---------------------------|----------------------------|---|
| CO ₂ | 31,1 | 73,8 | 0,468 |
| N ₂ O | 36,5 | 71,0 | 0,457 |
| Etano | 32,2 | 48,8 | 0,203 |
| Propano | 96,7 | 42,5 | 0,220 |
| Propileno | 91,9 | 46,2 | 0,230 |
| Benzeno | 289,0 | 48,9 | 0,302 |
| Tolueno | 318,6 | 41,1 | 0,290 |
| Amônia | 132,5 | 112,8 | 0,240 |
| Água | 374,2 | 220,5 | 0,272 |

Fonte: MUKHOPADHYAY (2000). P_c: Pressão crítica, T_c: temperatura crítica.

O dióxido de carbono (CO₂) tem sido até os dias de hoje o solvente de escolha para emprego em processos de extração por fluido supercrítico de produtos naturais. Por possuir temperatura e pressão críticas moderadas (31,1°C e 73,8 bar, respectivamente) permite que a operação de extração supercrítica ocorra a temperaturas mais brandas, o que é um fator importante a considerar quando se trabalha com produtos naturais, os quais muitas vezes podem sofrer reações de degradação a altas temperaturas. Além disso, o CO₂ é um gás inerte, não inflamável, não tóxico, apolar e tem um comportamento ideal na extração para compostos termolábeis (MUKHOPADHYAY, 2000; GOYENECHE et al. 2018). Por outro lado, o CO₂ supercrítico por apresentar uma baixa polaridade tem uma limitação de dissolver moléculas polares. Portanto, em muitos casos de extração principalmente com extratos antioxidantes que está relacionado com os compostos fenólicos é necessário modificar a polaridade do fluido pelo uso de um cossolvente para melhorar extração (PEREIRA et al. 2013; GOYENECHE et al. 2018). O metanol é o solvente mais usado como modificador para várias matrizes, mas é tóxico e, embora o etanol seja não tão polar como metanol, é um solvente ambientalmente seguro e pode ser uma boa escolha na extração com fluido supercrítico por ser usado na extração de produtos naturais (LANG & WAI, 2001; MOURA et al. 2012; SOLANA et al. 2014). A água é também um cossolvente desejável para a extração de produtos naturais, aumentando a polaridade do CO₂ supercrítico. Estudos relatam que o uso da água como cossolvente acidifica o meio facilitando a solubilização do solvente na matriz vegetal melhorando no aumento do rendimento dos compostos polares bioativos (JIAO & KERMANSHAHI, 2018).

3.3.4 Parâmetros que Influenciam no Processo de Extração Supercrítica

A seletividade do processo de extração supercrítica, ou seja, a extração dos compostos de interesse presentes no material vegetal, depende de diversos fatores. Além do tipo de solvente utilizado no processo e da presença de cossolventes, pode-se destacar:

- Densidade: Uma das principais características de um fluido supercrítico é a possibilidade de modificar a densidade do fluido alterando sua pressão e / ou temperatura. Como a densidade está relacionada com a solubilidade, alterando a pressão de extração, a força do solvente do fluido pode ser modificada (SILVA et al. 2016);

- Pressão e Temperatura: O controle da pressão permite realizar uma extração seletiva e, um aumento da temperatura, à pressão constante, ocasiona uma diminuição na

densidade do fluido supercrítico e portanto no seu poder de solvatação. Logo, pequenas mudanças na pressão ou temperatura resultam grandes mudanças na densidade, permitindo que muitas propriedades de um fluido supercrítico sejam selecionadas (PINTO et al. 2006; BHUSNURE et al. 2015).

- Solubilidade: Uma das principais vantagens do uso de extração com fluido supercrítico é a possibilidade de ajustar a solubilidade, que é altamente dependente da pressão, temperatura e da densidade do fluido. A solubilidade da maioria dos componentes em fluidos supercríticos aumenta com o aumento da densidade do fluido, o que pode ser conseguido aumentando a pressão de extração. Outros aspectos importantes que influenciam a solubilidade dos fluidos são a sua polaridade, peso molecular e a temperatura de extração (IBÁÑEZ et al., 2016).

- Modificadores (cossolventes): Como o CO₂ é o principal fluido usado na extração supercrítica, e devido à sua baixa polaridade, a adição de modificadores ao CO₂ supercrítico pode melhorar a proficiência da extração aumentando a solubilidade dos solutos polares. Os modificadores mais utilizados são o metanol, o etanol e a água (IBÁÑEZ et al., 2016).

- Vazão do solvente: Com relação à taxa de fluxo do solvente, um aumento na taxa de fluxo leva a um tempo de retenção mais curto, maior pressão na coluna causando um aumento na capacidade de extração, mas vale ressaltar que em alguns casos foi observado que, para valores maiores de vazão do solvente, o tempo de contato entre o soluto e o solvente, necessário para que houvesse a saturação do solvente com o soluto, acabou sendo insuficiente (PEREIRA & MEIRELES, 2010; LIU et al. 2018);

- Propriedades do soluto: Algumas características do soluto influenciam diretamente a sua solubilidade no fluido supercrítico. Em geral, quanto menor o peso molecular, a polaridade e a pressão de vapor do soluto, maior será sua solubilidade no CO₂ supercrítico (PEREIRA & MEIRELES, 2010);

- Tamanho de partícula, forma e porosidade do material sólido: Teoricamente, a redução do tamanho das partículas aumenta a eficácia da extração. Isso ocorre porque diminuir o tamanho das partículas leva à redução do caminho de difusão e aumenta a área de superfície de contato, como resultado, o processo de extração acelera. No entanto, as partículas muito pequenas podem afetar no aumento da transferência de massa interna entre o fluido e o soluto dentro do leito de extração ocasionando uma diminuição na taxa

de extração. Um outro fator imposta pelo processo além do tamanho da partícula é a porosidade do material sólido, pois este fator é primordial entre o contato da superfície entre a matriz e o com o fluido supercrítico para que ocorra uma boa taxa de transferência de massa durante a extração (IBÁÑEZ et al., 2016; JAHONGIR et al. 2019).

- Umidade do material sólido: Na maioria dos casos, a água presente na matriz vegetal compete com o soluto para interagir com o solvente, diminuindo assim o rendimento do processo. Por esta razão, a secagem do material vegetal é recomendada (PEREIRA & MEIRELES, 2010).

3.3.5 *Processo de Extração Supercrítica*

O processo de extração é mostrado esquematicamente na Figura 4. O fluido selecionado, como o CO₂, é inicialmente resfriado e depois bombeado como líquido. O fluido é então aquecido até a temperatura de extração selecionada e bombeado na pressão selecionada para um vaso de extração, que é mantido a esta temperatura. A matriz a ser extraída é empacotada na célula de extração em um vaso extrator para evitar quaisquer perdas de material durante a extração.

A etapa de separação do extrato do solvente ocorre quando a pressão do fluido é reduzida por uma válvula de expansão, localizada após o extrator, diminuindo drasticamente seu poder de solubilização quando expandido a estado gasoso, e o soluto precipita em um separador onde a quantidade de extrato pode ser medida (BRUNNER, 1994; ALBUQUERQUE, 2008).

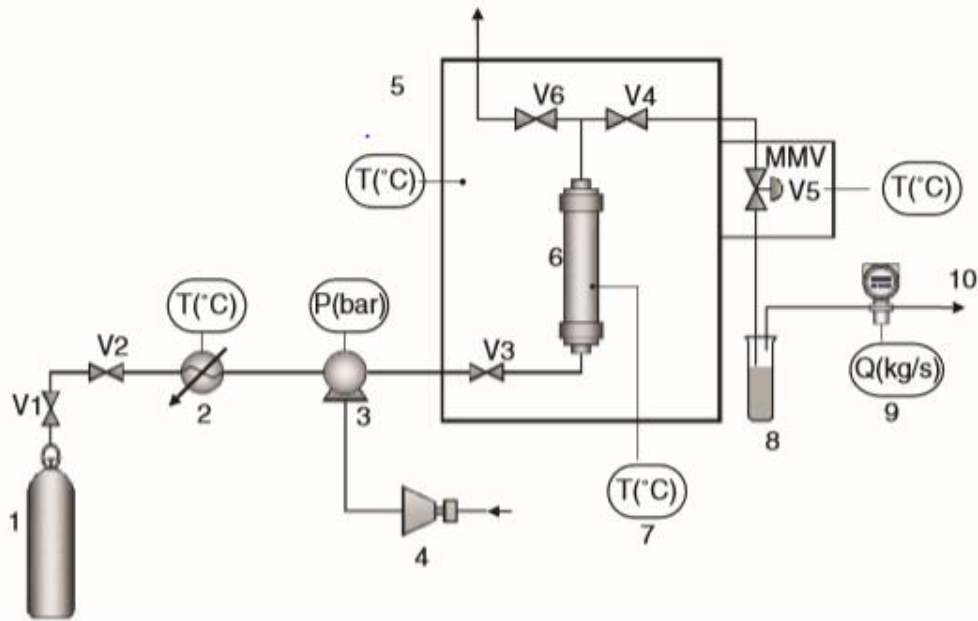


Figura 4- Diagrama esquemático de um processo de extração supercrítica.
 1. Cilindro de CO₂; 2. Banho de refrigeração; 3. Bomba; 4. Compressor; 5. Forno; 6. Vaso de extração; 7. Monitor; 8. Frasco de coleta; 9. Medidor de vazão; 10. Saída de CO₂; V1 – V6 Válvulas de controle de fluxo; MMV- Valvúla micrométrica.

Fonte: PINTO et al., 2018.

De acordo com Gupta e Shim (2006) a solubilidade é o critério mais importante que afeta a eficácia da maior parte dos processos de extração com fluido supercrítico. Por exemplo, a solubilidade pode ter um impacto direto sobre a taxa de rendimento e na economia do processo. Dependendo do processo de interesse, uma alta solubilidade ou uma extrema baixa solubilidade pode ser desejado.

3.4. Rendimento Global (X_0)

O rendimento global (X_0) é definido como a quantidade de material solúvel que pode ser extraída de uma determinada quantidade de matéria-prima em uma dada pressão e temperatura de extração, expressa como a relação entre a massa de material solúvel pela massa de matéria-prima sólida (MEIRELES, 2003). No cálculo do rendimento global (Equação 1) a quantidade de material extraível é calculada como a relação entre a massa de extrato e a massa inicial ou massa de alimentação da amostra.

$$X_0 = \frac{m_{extrato}}{m_{alimentação}} \times 100 \quad (1)$$

O X_0 depende das características da matéria-prima, mas também da forma como os compostos nela presentes interagem com o solvente. Portanto, o X_0 está diretamente

ligado a duas propriedades físico-químicas: densidade do solvente e pressão de vapor e/ou sublimação do soluto (BRUNNER, 2005).

O comportamento do rendimento global com a temperatura e pressão pode se assemelhar ao da solubilidade de solutos em fluidos supercríticos (QUISPE-CONDORI, 2005). O seu estudo permite visualizar o comportamento do sistema visto que, devido à complexidade da composição química dos extratos, vários comportamentos podem ser observados, como os efeitos antagônicos da densidade do solvente e da pressão de vapor do soluto que ocasionam um aumento na temperatura, causando um aumento da solubilidade. No entanto, a densidade do solvente decresce com o aumento da temperatura diminuindo a solubilidade. Como resultado, estas duas variáveis causam efeitos inverso sobre o rendimento da extração (SOUSA et al., 2002; JESUS et al., 2013).

Em termos de rendimento de extração, os resultados de ensaios de isotermas globais de rendimento são geralmente representadas num gráfico semelhante à ilustração esquemática apresentado na Figura 5. A partir deste gráfico, é possível avaliar os efeitos dos parâmetros da temperatura e da pressão sobre o rendimento da extração (JESUS et al., 2013).

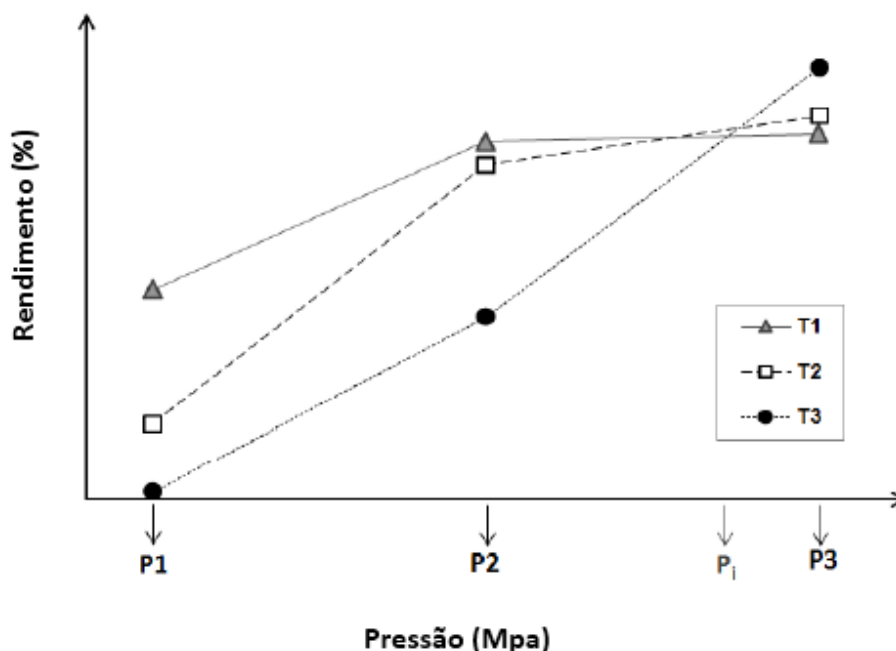


Figura 5- Ilustração esquemática de Isotermas de rendimento global.
Fonte: adaptado de JESUS et al., 2013.

De acordo com a Figura 5 as pressões relativamente baixas ($P < P_i$), o efeito da densidade impera no solvente; assim, aumentando a temperatura resulta numa redução do

rendimento de extração. No entanto, com pressões relativamente elevadas ($P > P_i$), o efeito da pressão de vapor domina; conseqüentemente aumenta a temperatura e o rendimento de extração (BRUNNER, 1994; SOUSA et al., 2002; JESUS et al., 2013). A pressão à qual a inversão do mecanismo dominante ocorre é conhecida como ponto de cruzamento (P_i) que fica entre P_2 e P_3 .

De forma geral, o comportamento do rendimento global com a temperatura e a pressão permite visualizar o comportamento da solubilidade do extrato, proporcionando informações necessárias para a seleção das condições operacionais de extração. Além disso, é usado como um dado experimental importante na aplicação dos diversos modelos matemáticos.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Produtos Químicos

O dióxido de carbono (99,90%) puro foi fornecido pela White Martins Ltda. (Belém, Pará, Brasil). Os reagentes ácido gálico, folin-Ciocalteu, trolox, DPPH (2,2-difenil-1-104 picrilhidrazil), ABTS [2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina) ácido 6-sulfônico], foram adquiridos na Sigma - Aldrich (St. Louis, MO, EUA) e etanol (99,5%) foram adquiridos da Dinâmica Ltda. (São Paulo, Brasil).

4.2. Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) Amostras

Os frutos de açai (*Euterpe oleracea* Mart.) foram coletados nos municípios de Anajás (0° 59' 13" de latitude Sul e 49° 56' 24" de longitude Oeste), Chaves (0° 9' 37" latitude Sul, 49° 59' 18" longitude Oeste) e na ilha de Saracá, localizado no Limoeiro do Ajuru (01° 53' 39" de latitude Sul e 49° 22' 57" de longitude Oeste), no estado do Pará-Brasil, no período de julho de 2017. Os frutos da *Euterpe oleracea*, foram identificados neste trabalho de acordo com os nomes dos municípios.

4.3. Amostras da Polpa Liofilizada de Açai (PLA)

Os frutos de açai, 4 kg de cada localidade, foram selecionados, lavados e imerso em água potável a 60 °C por 15 min, para facilitar a separação da polpa. A despulpadeira mecânica foi realizada utilizando água na proporção 2:1 (fruta: água, m/v) em uma máquina de aço inoxidável (METVISA® DG.10, Belém, Brasil). As amostras da polpa de açai foram armazenadas em sacos plásticos e congeladas a -18 °C por uma semana. A polpa congelada foi desidratada por liofilização por 72 h no liofilizador (Liotop, L101, São Paulo, Brasil), em seguida, embalado a vácuo e mantido sob refrigeração a 5 °C por quatro meses. O tamanho da partícula foi analisado usando peneiras Tyler (WS Tyler, EUA) -8 + 28 mesh e a partícula média o diâmetro foi determinado de acordo com o método ASAE (1998). A densidade real da amostra foi determinada em um Picnômetro de Hélio (Quantachrome, Ultrapyc 1200e, EUA). Essas análises foram feitas em triplicata. A Equação 1 mostra a densidade aparente. A porosidade do leite foi determinada pela relação entre as densidades aparente e real, conforme à Equação 2.

$$\rho_a = \frac{m}{V} \quad (1)$$

onde: ρ_a é a densidade aparente, m é a massa da amostra e V é o volume da amostra.

$$\varepsilon = 1 - \frac{\rho_a}{\rho_r} \quad (2)$$

onde: ε é a porosidade do leito e ρ_r é a densidade verdadeira da amostra.

4. 4. Procedimentos de Extração: CO₂-SE

Os ensaios foram realizados em um sistema Spe-ed™ SFE (Allentown, PA, EUA modelo 7071 da Applied Separations), equipado com um recipiente de 0,05 L, com as seguintes dimensões: altura interna de 0,3231m e diâmetro interno de 0,0142 m. As isotermas de rendimento global foram realizadas sob as seguintes condições experimentais: 50 °C/350 bar, 60 °C/420 bar e 70 °C/490 bar. Nessas condições, Batista et al. (2016) obtiveram os melhores rendimentos globais de extração, dos quais a densidade do dióxido de carbono (CO₂) é próxima a 900 kg/m³. O CO₂ utilizado foi (99,9% puro, White Martins, Pará, Brasil), e a extração foi realizada em duas etapas: período estático (período em que o solvente e o soluto entram em contato em regime fechado) de 1800 s e um período dinâmico (período em que o sistema é aberto, mantendo o fluxo constante liberando o solvente na fase gasosa e o extrato precipitado foi armazenado em um frasco de coleta) de 10.800 s, utilizando uma vazão mássica de solvente de $8,85 \times 10^{-5}$ kg/s e 0,005 kg de amostra de base seca. Os experimentos foram realizados em duplicata. O rendimento global foi calculado em relação à massa do extrato e à massa da matriz sólida do açaí em base seca (b.s), conforme a Equação 3.

$$X_{0_{b.s}} = \left(\frac{m_{extraída}}{m_{amostra} \times \left(1 - \frac{U_a}{100}\right)} \right) \times 100 \quad (3)$$

onde: $X_{0_{b.s}}$ é o rendimento global (%); $m_{extraída}$ é a massa de óleo; $m_{amostra}$ é a massa da amostra e U_a é a umidade da amostra.

4.5. Composição de Ácidos Graxos do Óleo de Açaí

As composições de ácidos graxos das amostras de óleo de açaí de diferentes municípios foram determinadas por cromatografia gasosa (CG) usando o método AOCS Ce 1-62 (1995). Os ésteres metílicos de ácidos graxos foram preparados pelo método AOCS Ce 2-66 (1995). A análise foi realizada em um cromatógrafo de gás Shimadzu GC-2010 equipado com um detector de ionização de chama (FID) com uma coluna capilar TG-WAX MS (30m × 0,32 mm × 0,25 u). As condições operacionais foram: Programa de temperatura da coluna: 50 ° C (60 s), taxa de aquecimento de 10 °C/min a 250 °C (480 s); a temperatura do injetor e do detector foi de 250 °C; hidrogênio foi usado como gás de arraste com velocidade linear de 0,2 m/s. Os experimentos foram realizados em duplicata.

4.6. Índices de Qualidade Nutricional de Lipídios

Uma melhor abordagem para a avaliação nutricional de lipídios é o uso de índices baseados na composição de ácidos graxos e seus efeitos funcionais. Esses índices são o índice de aterogenicidade (I.A) - Eq. (4), e o índice de trombogenicidade (I.T) - Eq. (5), conforme definido por Ulbricht e Southgate (1991), bem como o hipocolesterolêmico/hipercolesterolêmico taxa de ácido graxo (h/H) - Eq. (6), segundo Santos-Silva et al. (2002).

$$(I.A) = \frac{(C12:0) + 4(C14:0) + (C16:0)}{(\sum MUFA) + (\sum \omega - 6) + (\sum \omega - 3)} \quad (4)$$

$$(I.T) = \frac{(C14:0) + (C16:0) + (C18:0)}{0.5(\sum AGMI) + 0.5(\sum \omega - 6) + 3(\sum \omega - 3) + \left(\frac{\sum \omega - 3}{\sum \omega - 6}\right)} \quad (5)$$

$$(h/H) = \frac{(C18:1\omega - 9) + (C18:2\omega - 6) + (C20:4\omega - 6) + (C18:3\omega - 3) + (C20:5\omega - 3) + (C22:5\omega - 3) + (C22:6\omega - 3)}{(C14:0) + (C16:0)} \quad (6)$$

onde: C12:0 (ácido láurico); C14:0 (ácido mirístico); C16:0 (ácido palmítico); C18:0 (ácido esteárico); C18:1 ω -9 (ácido oleico); C18:2 ω -6 (ácido linoleico); C18:3 ω -3 (ácido linolênico); C20:4 ω -6 (ácido araquidônico); C20:5 ω -3 EPA (ácido eicosapentaenóico); C22:5 DPA (ácido docosapentaenóico); C22:6 DHA (ácido docosahexaenóico); MUFA (ácidos graxos monoinsaturados).

4.7. Predição da Provável Composição de Triglicerídeos (TGs) do Óleo de Açaí

A composição em TGs de materiais oleaginosos naturais, como os óleos vegetais são complexos. Apesar dos modernos métodos de análise, a identificação da composição de todos os TGs dos óleos ainda é um desafio (INDELICATO et al., 2017), visto que não existem padrões disponíveis comercialmente suficientes. Neste trabalho as prováveis composições de TGs de óleos da polpa de açaí liofilizado, de cada diferentes localidade e condições de operação submetidos a CO₂-SE foram previstos com base na teoria aleatória 1,2,3 (NORRIS & MATTIL, 1947), que assume que cada ácido graxo é distribuído aleatoriamente para todas as três posições do moléculas de glicerol de um TG, e podem ser aplicadas no caso em que não isômeros é distinto (LITCHFIELD, 1972). A fim de realizar essas previsões, uma aplicação computacional em Excel/VBA desenvolvida pelo nosso grupo foi utilizado. Matematicamente, a aplicação gera todas as combinações possíveis com repetição, de três ácidos graxos (elementos k) na estrutura do glicerol a partir de um conjunto de um determinado tamanho n (composição de ácidos graxos) e todas as permutações possíveis de cada combinação (ver informações complementares no anexo deste trabalho). Esta metodologia resulta em um grande número de TGs, então os resultados foram descritos por grupos de TGs (NC: NDB) com o mesmo número de carbono equivalente ($NCE = NC - 2 \cdot NDB$), onde NC é o número de carbonos, sem o três átomos de carbono do glicerol e NDB é o número de ligações duplas; grupos com menos de 1% (m/m) da concentração total foram ignorados.

4.8. Predição da Solubilidade do Óleo de Açaí em CO₂ Supercrítico

A solubilidade de extratos em um solvente supercrítico é um parâmetro para definir melhor a condição de operação (P e T) para obter maiores rendimentos de extração. Existem poucos dados na literatura sobre a solubilidade de óleos vegetais em CO₂ supercrítico porque as medições experimentais são trabalhosas e demoradas e, portanto, caras. Mais difíceis são os dados de solubilidade de TGs em CO₂ supercrítico, considerando a dificuldade adicional de obtê-los puros. A previsão por equações de estado é uma opção para avaliar o comportamento da solubilidade do óleo vegetal em uma ampla faixa de pressão e temperatura. Neste trabalho, a solubilidade do óleo de açaí em dióxido de carbono supercrítico foi predita com a equação de estado de Peng-Robinson usando a regra de mistura de van der Waals com dois parâmetros de interação binários. O óleo de açaí foi considerado uma mistura multicomponente de ácidos graxos, segundo metodologia descrita por Cunha et al. (2016). O procedimento proposto por Cunha et al. (2016) correlacionaram com sucesso os dados experimentais de equilíbrio gás

(solubilidade) -líquido do sistema de óleo de palmiste /CO₂ em pressões entre 103,8-345,5 bar e temperaturas entre 40-70 °C, com os desvios médios absolutos entre os dados experimentais e a fração em peso de CO₂ prevista de 0,003 para a fase gasosa (solubilidade) e 0,097 para a fase líquida.

O cálculo da solubilidade da mistura multicomponente em dióxido de carbono usando uma equação de estado requer informações sobre as propriedades termofísicas (temperatura crítica T_c, pressão crítica P_c e o fator acêntrico ω) de todos os componentes puros que constituem o sistema multicomponente, a composição e os parâmetros de interação binários entre os componentes puros e dióxido de carbono. Neste estudo, as propriedades críticas (T_c, P_c e ω) da composição de ácidos graxos do óleo de açaí e os parâmetros de interação binária foram calculados anteriormente e descritos em detalhes por Araújo e Meireles (2000). A fração de massa da fase gasosa do equilíbrio gás-líquido calculada pela equação de estado para o sistema multicomponente óleo de açaí/CO₂ foi convertida em solubilidade para as várias composições em ácidos graxos de acordo com a seguinte equação:

$$sol(g_{oil}/g_{CO_2}) = \frac{\sum_i M_i \cdot z_i}{M_{CO_2} \cdot z_{CO_2}} \quad (7)$$

onde: z_i é a fração molar do componente i na fase gasosa; M_i é a massa molar de cada componente.

4.9. Compostos Fenólicos Totais (CFT) e Antocianinas Totais em PLA Antes e Depois de CO₂-SE

A determinação de CFT para PLA e polpas após extrações com fluido supercrítico foram quantificadas de acordo com a espectrofotometria método descrito por Singleton e Rossi (1965). A quantificação foi realizada em espectrofotômetro UV-vis (Thermo Scientific, Evolution 300, San Jose, EUA) a 760 nm. Para quantificação (n = 3), o ácido gálico foi usado como padrão em diferentes concentrações (20–100 mg /L $r^2 = 0,99$). O conteúdo fenólico total foi expresso em mg de ácido gálico equivalente/100 g de material seco (b.s). A quantificação das antocianinas totais foi realizada de acordo com o método espectrofotométrico diferencial de pH descrito por Giusti e Wrolstad (2001). As leituras de absorvância foram realizadas em espectrofotômetro (Thermo Scientific, Evolution 300, San Jose, EUA), nos comprimentos de onda de 510 e 700 nm. Os cálculos foram realizados de acordo com as equações (8) e (9), e os resultados (n = 3) expressos em mg de equivalente de cianidina-3-glicosídeo /100 g (b.s).

$$Abs = [(Abs_{510nm} - Abs_{700nm})_{pH1.0} - (Abs_{510nm} - Abs_{700nm})_{pH4.5}] \quad (8)$$

$$Total\ anthocyanins\ (mg/L) = \frac{Abs \times 10^3 \times MW \times FD}{(\epsilon \times L)} \quad (9)$$

onde: *Abs* é a absorvância; *MW* é o peso molecular relativo a cianidina-3-glicosídeo (449,2 g/mol); *FD* é o fator de diluição dado pela razão entre o volume de diluição (em litros) e a massa da amostra (em gramas); ϵ é o coeficiente molar do 3-glicosídeo cianídrico em solução tampão de pH 1,0 a 510 nm (26900 L / mol/cm) e *L* é o caminho óptico.

4.10. Capacidade Antioxidante em PLA Antes e Depois de CO₂-SE

Ensaio TEAC (capacidade antioxidante equivalente de trolox): foi determinado de acordo com um procedimento proposto por Miller et al. (1993) com modificações. ABTS^{•+} foi obtido a partir da reação de ABTS 7 Mm solução aquosa com persulfato de potássio 140 mM misturada e mantida em temperatura ambiente por 12–16 h protegida da luz. A solução foi diluída em etanol (P.A) para a absorvância de $0,70 \pm 0,02$ a 734 nm. Alíquotas de 30 μ L de cada extrato foram submetidas à reação com 3 mL do radical ABTS^{•+}. Após 6 min de reação, foi realizada a leitura da absorvância, utilizando as concentrações de Trolox como referência (0,01 a 0,020 mg/mL). Os resultados (n = 3) foram expressos em μ M Trolox/g por g em base seca (b.s). Ensaio DPPH: foi determinado usando o método descrito por Brand-Williams et al.(1995) com modificações. Foi preparada uma solução de etanol/água (70:30, v/v) contendo DPPH 0,06 mM. Após ajuste do branco com a solução, uma alíquota de 100 μ L dos extratos obtidos por CO₂-SE foi adicionada a 3,9 mL desta solução contendo 0,06 mM de DPPH. A diminuição da absorvância a 515 nm foi monitorada por espectrofotometria em intervalos de 1 min durante os primeiros 10 min e depois em intervalos de 5 min até a estabilização (60 min conforme determinado por um estudo preliminar). Uma curva analítica foi preparada com Trolox (0,01 a 0,20 mg/L) e os resultados (n=3) foram expressos em μ M Trolox/g em base seca (b.s).

4.11. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS)

Para se analisar as estruturas morfológicas e as microanálises elementares da polpa liofilizada de açaí (PLA), foram utilizadas as técnicas de MEV e de EDS. As capturas das imagens das partículas, foram realizadas no Laboratório de Microscopia (LMEV/ITEC-UFPA), pela medida visual por Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) (Hitachi, modelo TM 3000, Japão).

4.12. Parâmetros de Cor

A caracterização da cor da PLA de açaí das localidades Anajás, Chaves e Saracá foram determinadas utilizando um colorímetro Color Quest XE (Hunter Lab série CQX3470, VA, EUA), equipado com fonte de luz D65, ângulo de observação a 10° obtendo os valores de L^* , a^* , b^* . As medidas foram realizadas com três repetições utilizando o sistema CIELAB (L^* , a^* , b^*) definidos pela *Commission Internationale D'eclairage* (CIE) relato por Minolta (1998). Os resultados expressam a variação de cor (ΔE), seu valor em Cromo e ângulo de tonalidade *hue* calculadas segundo as equações 10, 11 e 12. O equipamento foi calibrado nos seguintes parâmetros $L^*=97,51$; $a^*= + 0,34$; $b^*= + 1,73$, (dados definidos pelo fabricante).

$$\Delta E = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2} \quad (10)$$

$$\text{Croma} = [(a^*)^2 + (b^*)^2]^{1/2} \quad (11)$$

$$h^\circ = \arctang(b^*/a^*) \quad (12)$$

4.13. Composição Mineral da Polpa de Açaí

A metodologia utilizada foi a descrita por Miyazawa et al. (2009) onde utilizou-se a digestão úmida com HNO₃ + HClO₄ (3:1) em um tubo digestor. Para o procedimento foi utilizado 0,5g do material liofilizado, transferido para um tubo digestor, adicionados 8 mL de um solução HNO₃:HClO₄ (3:1), cuja esta solução ficou descansando em ambiente refrigerado durante a noite. Posteriormente, elevou-se a temperatura do tubo digestor para 120°C até o total desprendimento do vapor castanho e depois a 200°C até o total desprendimento do vapor branco. Após a digestão, a solução do tubo foi filtrada e aferida até a marca em balão volumétrico de 50 mL com água deionizada. As amostras foram digeridas em triplicata (1, 2 e 3) e o branco analítico foi preparado pelo mesmo método sem adição da amostra. A composição mineral foi determinada a partir desta solução no Laboratório de Análises Químicas do Museu Paraense Emílio Goeldi utilizando-se um espectrômetro de absorção atômica de chama da marca Thermo, modelo ICE3000.

4.14. Análise Estatística dos Resultados

Todas as análises foram realizadas em triplicata e os resultados foram expressos como a média de três repetições independentes ($n=3$). Para verificar a existência de diferença significativa entre as condições de extrações com CO₂-SE e das PLA de cada localidade, as médias dos resultados foram submetidas à análise de variância e, quando significativas, comparadas pelo teste de Tukey a 95% de probabilidade, com auxílio do programa Statistica®, versão 7.1 (Statsoft, Inc. Tulsa, EUA).

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1. Caracterização da matéria prima

A densidade real média das amostras de açaí apresentaram valores de $1110 \pm 0,01 \text{ kg/m}^3$ para Anajás, $1090 \pm 0,01 \text{ kg/m}^3$ para Chaves e $1080 \pm 0,01 \text{ kg/m}^3$ para Saracá. A densidade aparente das amostras foram de 330 kg/m^3 . A porosidade do leite foi de 0,7 e o diâmetro médio das partículas foi de $7,6 \times 10^{-4} \text{ m}$.

5.2. Rendimento global

A Tabela 1 mostra os rendimentos globais de $\text{CO}_2\text{-SE}$ do óleo PLA das três localidades Anajás, Chaves e Saracá. Os maiores rendimentos foram obtidos com o óleo PLA de Chaves que variaram de $55,71 \pm 0,22$ a $50 \text{ }^\circ\text{C}/350 \text{ bar}$ a $57,06 \pm 0,03$ a $70 \text{ }^\circ\text{C}/490 \text{ bar}$; os rendimentos do Saracá variaram de $55,21 \pm 0,07$ a $50 \text{ }^\circ\text{C}/350 \text{ bar}$ a $55,28 \pm 0,21$ a $70 \text{ }^\circ\text{C}/490 \text{ bar}$ e os menores rendimentos foram obtidos do óleo PLA de Anajás que variou de $49,28 \pm 0,19$ at. $60 \text{ }^\circ\text{C}/420$ a $50,35 \pm 0,19$ a $50 \text{ }^\circ\text{C}/350 \text{ bar}$. Os experimentos com $\text{CO}_2\text{-SE}$ do óleo PLA dos frutos do açaí (*Euterpe oleracea*) comercial, de região geográfica desconhecida, foram obtidos nas mesmas condições operacionais (P,T) aplicadas neste trabalho, apresentaram rendimentos globais inferiores: $43,72$ a $50 \text{ }^\circ\text{C}/350 \text{ bar}$, $40,78$ a $60 \text{ }^\circ\text{C}/420 \text{ bar}$ e $45,40$ a $70 \text{ }^\circ\text{C}/490 \text{ bar}$ (BATISTA et al., 2016).

A densidade de CO_2 sob essas condições de operação tem exatamente valor constante igual a $899,23 \text{ kg/m}^3$, retirado do NIST Química Webbook (banco de dados de referência do padrão NIST). Densidade é uma propriedade termodinâmica importante para definir o poder de solvatação de um solvente em altas pressões, aumentando a densidade do solvente aumenta seu poder de solvência. Não houve influência significativa da temperatura e pressão no rendimento global do óleo de açaí das localidades de Anajás e Saracá, conforme observado pelo teste de Tukey na Tabela 1, da localidade de Chaves o aumento da temperatura resultou em um aumento no rendimento global devido ao aumento da pressão de vapor dos compostos da composição do óleo de açaí que variam conforme a localidade descrito no próximo item.

Tabela 1- Rendimento global em base seca (X_0 , b.s)

| Localidade | T (°C) | P (bar) | Rendimento (%) |
|------------|--------|---------|----------------------------|
| Anajás | 50 | 350 | 50,35 ± 0,19 ^c |
| | 60 | 420 | 49,28 ± 0,19 ^d |
| | 70 | 490 | 49,84 ± 0,28 ^{cd} |
| Chaves | 50 | 350 | 55,71 ± 0,22 ^b |
| | 60 | 420 | 56,94 ± 0,08 ^a |
| | 70 | 490 | 57,06 ± 0,03 ^a |
| Saracá | 50 | 350 | 55,21 ± 0,07 ^b |
| | 60 | 420 | 55,23 ± 0,14 ^b |
| | 70 | 490 | 55,28 ± 0,21 ^b |

Os dados representam a média ± desvio padrão. As médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si ao nível de significância de 95%, pelo teste de Tukey.

5.3. Composição de ácidos graxos do óleo de açaí

Os perfis de ácidos graxos dos óleos PLA obtidos neste trabalho por CO₂-SE a 50 °C/350 bar, 60 °C/420 bar e 70 °C/490 bar, das diferentes localidades são apresentados na Tabela 2. O maior teor de ácido oleico foi encontrado no óleo PLA de Saracá para todas as condições de operações, com valor superior de 64,19% a 60 °C/420 bar; o menor teor foi encontrado em Chaves (61,65%) a 50 °C/350 bar. O maior teor de ácido linoléico foi encontrado no óleo PLA de Chaves para todas as condições de operação com maior valor de 12,31% a 50 °C/350 bar; o menor teor foi encontrado no Saracá (9,45%) a 50 °C/350. O maior teor de ácido palmítico (21,79%) foi encontrado no óleo PLA de Saracá a 50 °C/350 e o mais baixo (21,15%) de Chaves a 70 °C /490 bar, mostrando que não houve diferença significativa no conteúdo do ácido palmítico para todas as localidades e condições operacionais estudadas. Conforme mostrado na Tabela 2, o efeito na composição de ácidos graxos do óleo PLA foi mais acentuado pela localização geográfica do que nas condições de operação de CO₂-SE. Em nosso trabalho anterior Batista et al. (2016) da polpa liofilizada de frutos de açaí (*Euterpe oleracea*), com região geográfica desconhecida, submetidos a CO₂-SE, foi encontrado menor teor de ácido oleico de 52,73% e 62,41% a 50 °C/350 e 70 °C/490 bar, respectivamente do que os teores obtidos neste trabalho para todas as localidades e apenas encontrado ácido linoléico (15,54%) a 50 °C/350 bar.

Tabela 2- Composição de ácidos graxos (% em massa) do óleo de polpa de açaí liofilizado obtido por extração com fluido supercrítico e índices de qualidade funcional dos óleos

| Ácidos Graxos | ANAJÁS | | | CHAVES | | | SARACÁ | | |
|-------------------------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| | 50°C | 60°C | 70°C | 50°C | 60°C | 70°C | 50°C | 60°C | 70°C |
| | 350 bar | 420 bar | 490 bar | 350 bar | 420 bar | 490 bar | 350 bar | 420 bar | 490 bar |
| Láurico (C12:0) | 0,03 | 0,14 | 0,03 | 0,07 | 0,03 | 0,03 | 0,22 | 0,03 | 0,04 |
| Mirístico (C14:0) | 0,07 | 0,11 | 0,07 | 0,08 | 0,08 | 0,08 | 0,19 | 0,08 | 0,08 |
| Palmitico (C16:0) | 21,67 | 21,74 | 21,68 | 21,29 | 21,19 | 21,15 | 21,79 | 21,69 | 21,57 |
| Palmitoleico (C16:1) (ω -7) | 3,96 | 3,90 | 3,84 | 3,56 | 3,46 | 3,43 | 3,46 | 3,53 | 3,56 |
| Margárico (C17:0) | 0,15 | 0,07 | 0,15 | 0,12 | 0,14 | 0,14 | 0,07 | 0,07 | 0,14 |
| Oléico (C18:1) (Cis ω -9) | 62,18 | 62,21 | 62,48 | 61,65 | 61,98 | 62,10 | 63,99 | 64,19 | 64,12 |
| Linoleico (C18:2) (Cis ω -6) | 11,07 | 10,87 | 10,84 | 12,31 | 12,17 | 12,19 | 9,45 | 9,55 | 9,51 |
| Linolênico (C18:3) (ω -3) | 0,66 | 0,71 | 0,65 | 0,69 | 0,72 | 0,72 | 0,67 | 0,70 | 0,75 |
| Araquídico (C20:0) | 0,13 | 0,17 | 0,18 | 0,17 | 0,16 | 0,11 | 0,08 | 0,09 | 0,18 |
| Behênico (C22:0) | 0,09 | 0,09 | 0,09 | 0,06 | 0,06 | 0,06 | 0,08 | 0,07 | 0,06 |
| TOTAL | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| AGS | 22,66 | 22,86 | 22,67 | 22,31 | 22,23 | 22,18 | 23,01 | 22,64 | 22,64 |
| AGI | 77,34 | 77,14 | 77,33 | 77,69 | 77,77 | 77,82 | 76,99 | 77,36 | 77,36 |
| MUFA | 66,14 | 66,10 | 66,32 | 65,21 | 65,43 | 65,52 | 67,45 | 67,72 | 67,68 |
| PUFA | 11,20 | 11,04 | 11,01 | 12,48 | 12,34 | 12,30 | 9,54 | 9,64 | 9,68 |
| Índices | | | | | | | | | |
| P/S | 0,49 | 0,48 | 0,49 | 0,56 | 0,56 | 0,55 | 0,41 | 0,43 | 0,43 |
| MUFA/PUFA | 5,91 | 5,99 | 6,02 | 5,23 | 5,30 | 5,33 | 7,07 | 7,02 | 6,99 |
| I A | 0,28 | 0,29 | 0,28 | 0,28 | 0,28 | 0,27 | 0,29 | 0,28 | 0,28 |
| I T | 0,54 | 0,54 | 0,54 | 0,52 | 0,52 | 0,52 | 0,54 | 0,53 | 0,53 |
| h/H | 3,40 | 3,38 | 3,40 | 3,49 | 3,52 | 3,53 | 3,37 | 3,42 | 3,44 |

AGS (ácidos graxos saturados); AGI (ácidos graxos insaturados); MUFA (ácidos graxos monoinsaturados); PUFA (ácidos graxos poliinsaturados). Os desvios padrão para todos os ácidos graxos foram inferiores a 1,8%. P/S (razão percentual de poliinsaturados/saturados); A I (índice de aterogenicidade); T I (índice de trombogenicidade); h/H (hipocolesterolêmico/hipercolesterolêmico).

A quantidade de ácidos graxos monoinsaturados (MUFA) obtida é maior do que os ácidos graxos poliinsaturados (PUFA), para todas as amostras estudadas (Tabela 2). As maiores frações de MUFA e PUFA foram obtidas nas amostras de óleo de açaí Saracá (67,72%) e Chaves (12,48%), respectivamente. A quantidade de ácidos graxos saturados (AGS) é comumente usada para a avaliação do valor nutricional de óleos com base na razão P/S (PREEDY & WATSON, 2010), e como mostrado na Tabela 2, as razões P/S do óleo de açaí para todas as operações as condições e locais estão acima de 0,4, conforme recomendado. O efeito na composição de ácidos graxos do óleo de açaí por localização geográfica pode ser observado de forma mais clara através dos valores das razões MUFA/PUFA (Tabela 2). A maior proporção média (7,07) foi obtida com o óleo de açaí de Saracá e a menor (5,23) de Chaves.

As composições de ácidos graxos do óleo de açaí obtidas neste trabalho confirmam a semelhança com os teores encontrados no azeite conforme descritos na literatura, que também sofrem a influência do ambiente e da localização geográfica (OLLIVIER et al., 2006; EL-GHARBI et al., 2018). Ollivier et al. (2006) estudaram azeite de oliva de diferentes localidades na França com os seguintes valores médios de meios de diferentes localidades: MUFA 76,35% variando de 70,51 a 81,80%, PUFA 8,91% variando de 6,44 a 12,50%; o P/S razão de 0,6 variando de 0,50 a 0,73 e razão MUFA/PUFA de 8,57 variando de 5,64 a 12,70%. El-Gharbi et al. (2018) avaliaram a influência da localização geográfica no azeite da Tunísia com os seguintes meios das diferentes localidades de MUFA 71,16% variando de 66,12 a 75,11%, PUFA 15,61% variando de 12,80 a 2,10% e a razão P/S de 1,19 variando de 1,02 a 1,46 e MUFA/PUFA proporção de 4,77 variando de 3,29 a 5,87%.

5.4. Qualidade funcional

A Tabela 2 mostra os índices de qualidade funcional, calculados a partir da percentagens do óleo de açaí saturado, poliinsaturado e MUFA das três localidades. A relação percentual de ácidos graxos poliinsaturados/saturados apresentou valores inferiores a 0,6%, o que é considerado de grande relevância para os óleos vegetais devido ao seu potencial e funcionalidade lipídica, evidenciando seus efeitos em diversos processos benéficos à saúde como a prevenção e tratamento de doenças como artrite e outras doenças inflamatórias ou autoimunes (GRAY et al., 2013). Os resultados do IA e IT foram inferiores a 0,6%, podendo influenciar positivamente na prevenção de riscos de problemas cardiovasculares. Em contrapartida, os resultados da relação h/H devem ser avaliados inversamente aos índices IA e IT, uma vez que seus valores elevados estão diretamente ligados ao efeito direto na estimulação

ou prevenção da aterosclerose e trombose coronariana devido ao seu efeito no colesterol sanguíneo e baixo lipoproteína de densidade (LDL) (ATTIA et al., 2017).

5.5. Prováveis TGs de composição do óleo de açaí

Neste trabalho as prováveis composições de TGs do óleo de açaí foram previstas para cada condição de extração e localidade com base nas composições de ácidos graxos apresentadas na Tabela 2. As previsões foram realizadas usando um aplicativo computacional em Excel/VBA desenvolvido por nosso grupo apresentado nas informações complementares. Os perfis de composição de TGs de óleo de açaí são descritos na Tabela 3 por grupos de TGs com o mesmo número de carbono equivalente (NCE) e grupos com menos de 1% (m/m) da concentração total foram ignorados. Os principais TGs previstos, representando mais de 85% da composição total, são OOO, POO, OLiO, PLiO e POP com teores variando de 25,26 a 27,97%, 26,16 a 28,44%, 12,34 a 15,15%, 8,37 a 10,45% e 8,95 a 9,68%, respectivamente. Os menores teores (acima de 1%) foram obtidos para PoOO, PPOO, OLiLi, PLiP e PoLiO. Devido à falta de informação de Composição de TGs e a similaridade da composição de ácidos graxos de óleo de açaí com os teores encontrados nos óleos de oliva e bacaba, verificou-se que a maioria dos TGs apresentados na Tabela 3 são os mesmos encontrados pela análise cromatográfica desses óleos. Os TGs OLiLi (0,75%), OLiO (7,79%), OOO (51,7%), POO (20,8%) e PoOO (1,15%) foram encontrados em amostras de azeite de oliva da Espanha (ARANDA et al., 2004); os TGs PLiP (0,8%), PLiO (7,74%), OOO (35,81%), POP (3,56%) e POO (21,72%) foram encontrados em amostras de azeite da França (OLLIVIER, et al., 2006); e os TGs PLiO (4,31%), OOO (50,52%), POO (20,20%), PoLiO (2,09%), PPOO (4,31%) foram encontrados em amostras de azeite de Portugal (AMARAL et al., 2010). Os TGs OLiLi (2,8%), PLiP (1,3%), OLiO (13,6%), PLiO (7,1%), OOO (37%), POP (5,5%) e POO (24,5%) foram encontrados por Filho et al. (1995) em amostra de óleo de bacaba.

Tabela 3- Prováveis composições de triglicerídeos (% em massa) do óleo de açaí (*Euterpe oleracea*) extraído com CO₂ supercrítico.

| NC-2NDB | Grupo | TG | ANAJÁS | | | CHAVES | | | SARACÁ | | |
|---------|-------|-------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| | | | 50°C | 60°C | 70°C | 50°C | 60°C | 70°C | 50°C | 60°C | 70°C |
| | | | 350 bar | 420 bar | 490 bar | 350 bar | 420 bar | 490 bar | 350 bar | 420 bar | 490 bar |
| 44 | 52:4 | PoLiO | 1,74 | 1,69 | 1,66 | 1,75 | 1,69 | 1,67 | 1,34 | 1,37 | 1,38 |
| | 54:5 | OLiLi | 2,43 | 2,36 | 2,34 | 3,02 | 2,97 | 2,97 | 1,82 | 1,85 | 1,85 |
| 46 | 50:2 | PLiP | 1,66 | 1,65 | 1,63 | 1,80 | 1,77 | 1,76 | 1,43 | 1,42 | 1,41 |
| | | PPoO | 3,41 | 3,38 | 3,32 | 3,02 | 2,94 | 2,90 | 3,08 | 3,11 | 3,13 |
| | 52:3 | PoOO | 4,89 | 4,83 | 4,78 | 4,38 | 4,29 | 4,26 | 4,52 | 4,60 | 4,66 |
| | | PLiO | 9,52 | 9,42 | 9,37 | 10,45 | 10,33 | 10,32 | 8,40 | 8,42 | 8,37 |
| | | OLiO | 13,65 | 13,48 | 13,50 | 15,13 | 15,10 | 15,15 | 12,34 | 12,45 | 12,44 |
| 48 | 48:0 | PPP | 1,08 | 1,10 | 1,08 | - | - | - | 1,10 | 1,08 | 1,06 |
| | 50:1 | POP | 9,32 | 9,42 | 9,37 | 9,03 | 8,99 | 8,95 | 9,68 | 9,55 | 9,49 |
| | 52:2 | POO | 26,73 | 26,96 | 27,01 | 26,16 | 26,30 | 26,29 | 28,44 | 28,27 | 28,23 |
| | 54:3 | OOO | 25,57 | 25,71 | 25,95 | 25,26 | 25,63 | 25,73 | 27,84 | 27,89 | 27,97 |

5.6. Solubilidade prevista do óleo de açaí em CO₂ supercrítico

A equação de estado de Peng Robinson foi selecionada para prever o solubilidade do sistema multicomponente óleo de açaí/CO₂ com base nas composições de ácidos graxos da localidade de Chaves (Tabela 2). Os valores de solubilidade previstos nas mesmas condições operacionais dos experimentos de rendimentos globais foram: 0,082 g óleo/g CO₂ a 50 °C/350 bar, 0,093 g óleo/g CO₂ a 60 °C/420 bar e 0,108 g óleo/g CO₂ a 70 °C/490 bar. Essas previsões corroboram com o comportamento dos rendimentos globais que aumentam com o aumento da pressão e da temperatura.

A Fig. 1 mostra as isotermas de solubilidade (50, 60 e 70 ° C) previstas para uma faixa de pressão de 200 a 550 bar. Considerando que a densidade de o solvente define seu poder de solvência, onde a densidade aumenta em temperatura constante com aumento da pressão e em constante pressão, a densidade aumenta com a diminuição da temperatura. A Fig. 1 mostra que um aumento isotérmico na pressão aumentou a solubilidade devido a um aumento na densidade do solvente e, portanto, o poder de solvatação, mas na faixa de 300 bar, o cruzamento isotérmico ponto ocorrido, descrito na literatura pelo fenômeno de crossover, onde foram observados diferentes comportamentos de solubilidade em condições isobáricas. Abaixo do ponto de cruzamento isotérmico o efeito de densidade é predominante, a solubilidade aumenta devido ao aumento da densidade na temperatura constante com o aumento da pressão e devido à diminuição da temperatura na pressão constante, mas acima do ponto de cruzamento a solubilidade aumenta com o aumento da temperatura devido ao efeito da pressão de vapor dos compostos da composição do óleo de açaí. Experimentos de isotermas de solubilidade descritos na literatura de alguns óleos vegetais em CO₂ supercrítico apresentaram valores semelhantes à pressão de ponto de cruzamento isotérmico predito neste trabalho para o óleo de açaí: 300 bar para óleo de soja King e Bott (1995), entre 280 a 340 bar para óleo de noz de pistache Palazoglu e Balaban (1998) e 350 bar para óleo de amendoim (GOODRUM & KILGO, 1987).

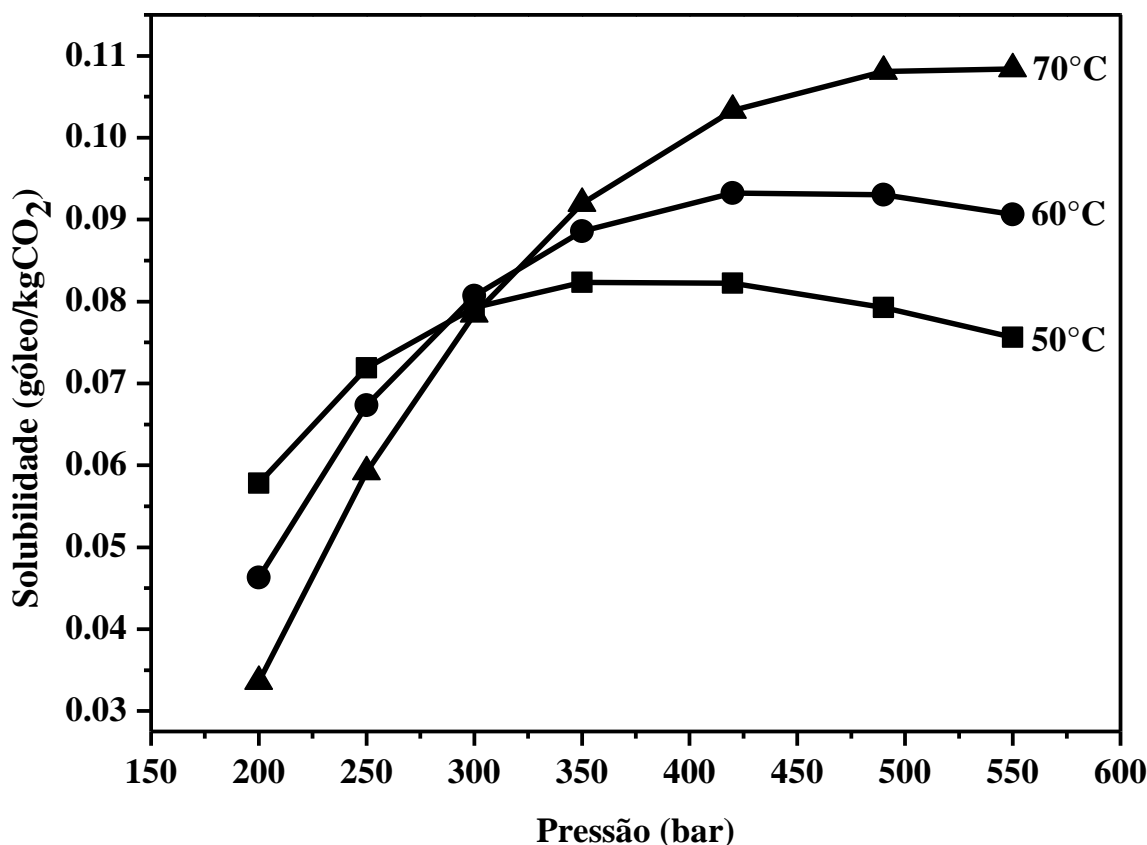


Figura 1- Solubilidade do óleo de açaí em dióxido de carbono supercrítico prevista pela equação de Peng-Robinson

5.7. Concentrações de CFT e antocianinas na polpa de açaí antes e depois de CO₂-SE

Os conteúdos de CFT na PLA apresentaram diferenças significativas entre as localidades estudadas (Anajás, Chaves e Saracá), com variações média de 736,65 a 1542,82 mg EAG/100 g (b.s). No entanto, após o CO₂-SE, as concentrações mais altas foram obtidas na condição de 60 °C/420 bar (Fig. 2A). Os teores de antocianinas totais também apresentaram variações significativas, com valores médios variando de 514,21 a 1151,37 mg cianidina-3-glicosídeo /100 g (b.s), com destaque para a localidade de Chaves com os teores mais elevados em relação às restantes localidades (Fig. 2B). Apesar da grande variação observada, os conteúdos do CFT foram semelhantes aos relatados por Batista et al. (2016) para PLA e após CO₂-SE a 60 °C/420 bar. Por outro lado, as concentrações de antocianinas obtidas neste estudo foram próximas às de *Euterpe precatoria* Mart. (868,91 mg / 100 g (b.s.)) cultivado na região de Manaquiri do Estado do Amazonas, Brasil de Yuyama et al. (2011) e semelhante ao encontrado no extrato de mirtilo (*Vaccinium myrtillus* L.) (1071 mg/100 g), obtido com 90% de CO₂ supercrítico, 5% de H₂O e 5% de etanol (PAES et al., 2014). Isso pode ser observado

nas Figuras 2A e 2B que as concentrações de CFT e de antocianinas totais na polpa do açaí após CO₂-SE apresentaram tendência de concentração dos compostos bioativos. Com variações significativas entre as condições aplicadas no processo e os locais de coleta dos frutos, existe uma grande influência dos parâmetros do processo como: temperatura, pressão e suas respectivas densidades de CO₂ nas concentrações de compostos com potencial antioxidante.

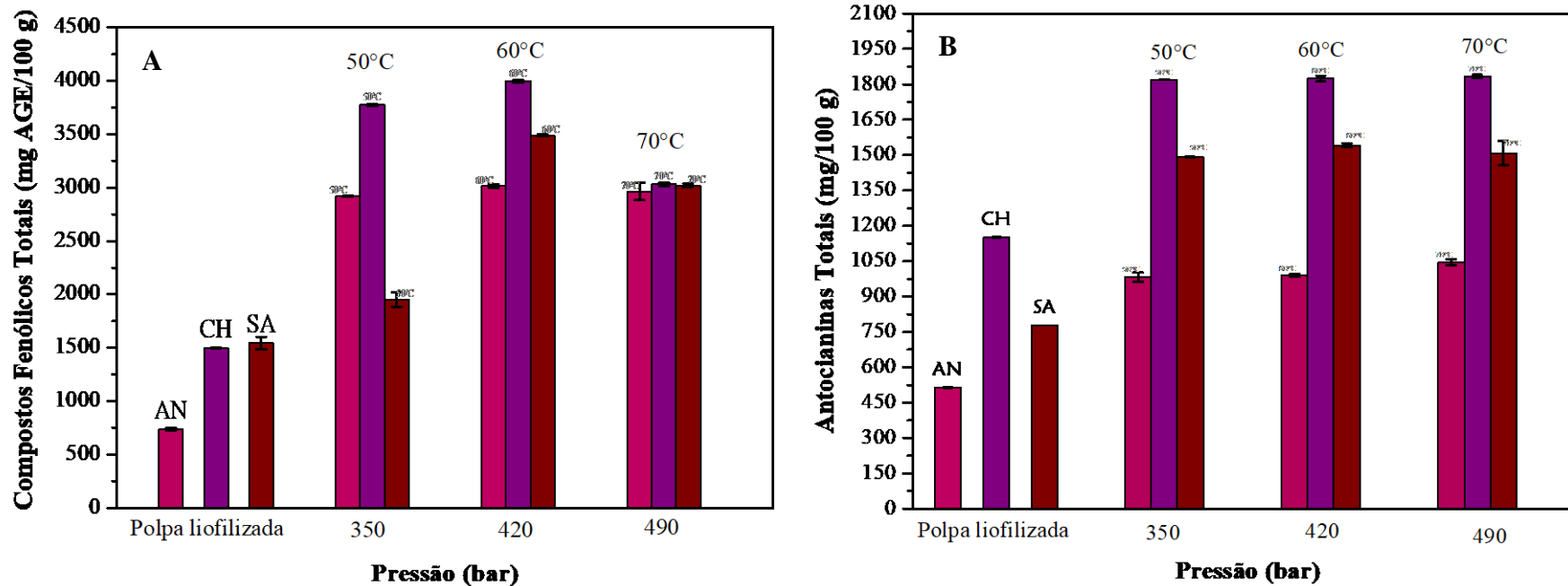


Figura 2- Conteúdo fenólico total da polpa de açai liofilizada (A) e conteúdo total de antocianina na polpa de açai liofilizada (B) antes e após a extração de CO₂ supercrítico nas localidades de (■) AN-Anajás, (■) CH-Chaves e (■) SA-Saracá.

5.8. Capacidade antioxidante in vitro da polpa de açaí antes e após CO₂-SE

A capacidade antioxidante da PLA dos frutos de açaí após extração com CO₂ - SE, para as localidades de Chaves, Saracá e Anajás, apresentou alta capacidade antioxidante para ambos os métodos aplicados (ensaio TEAC e DPPH). No entanto, essa ação é diferenciada entre as localidades e as condições analisadas (Tabela 4). Dentre as condições avaliadas, os extratos de PLA após extração a 60 °C/420 bar e 70 °C/490 bar apresentaram alta capacidade antioxidante, assim como as maiores concentrações em CFT e antocianinas totais, respectivamente (Figuras 2A e 2B). Essa relação é justificada pela premissa de que os compostos fenólicos e os pigmentos de antocianinas apresentam uma estrutura ideal para a desativação de radicais livres, tendo relação direta com a capacidade antioxidante in vitro, contribuindo de diferentes formas para a capacidade antioxidante dos extratos vegetais (KARABIN, et al., 2015). Por outro lado, variações significativas ($p < 0,05$) nos compostos bioativos foram observadas entre as localidades estudadas, refletindo na variação do potencial antioxidante dos extratos de cada localidade avaliada neste trabalho. Com variações médias entre 39,54 $\mu\text{M Trolox /g (b.s)}$ e 140,70 $\mu\text{M Trolox /g (b.s)}$ pelo método TEAC. Além disso, os valores médios para o ensaio DPPH variaram entre 707,56 $\mu\text{M Trolox/ g (b.s)}$ e 1533,45 $\mu\text{M Trolox/g (b.s)}$. No entanto, na condição de 60 °C/420 bar, a polpa após CO₂-SE da localidade de Chaves apresentou maior capacidade de sequestro do radical DPPH, significativamente maior do que o valores obtidos para Saracá e Anajás nas mesmas condições de extração. Os extratos de mirtilo (*Vaccinium myrtillus* L.) após o CO₂ - SE com cossolvente apresentaram variação média de 199 $\mu\text{M Trolox /g (b.s)}$ TEAC e 1658 $\mu\text{M Trolox /g DPPH (b.s)}$ (PAES et al., 2014), próximo aos obtidos neste trabalho para extrato da polpa de açaí após CO₂-SE. Em geral, para ambos os métodos utilizados, a capacidade antioxidante apresentou valores elevados para as condições com altas concentrações de CFT e antocianinas totais. Além disso, a grande variação no CFT e na variação do teor de antocianinas totais suportam a evidência de que a composição dos frutos do açaí pode ser influenciada pelo fator de localidade, refletindo na variação da composição química dos frutos, bem como na concentração de compostos bioativos. Esse fato também foi observado para outras frutas da região amazônica (SOUSA et al., 2018).

Tabela 4- Capacidade antioxidante dos extratos de *Euterpe oleracea* Mart. obtidos de polpas após CO₂-SE.

| | TEAC (μM Trolox/g) | | | DPPH (μM Trolox/g) | | |
|-------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| | Anajás | Chaves | Saracá | Anajás | Chaves | Saracá |
| Polpa Liofilizada | 39,54 ± 0,85 ^b | 57,95 ± 0,89 ^a | 41,61 ± 0,69 ^b | 707,56 ± 19,12 ^c | 936,82 ± 3,02 ^a | 804,00 ± 14,96 ^b |
| T°C/P(bar) | CO ₂ -SE | | | | | |
| 50/350 | 54,04 ± 1,60 ^c | 136,27 ± 1,68 ^a | 59,07 ± 1,14 ^b | 978,63 ± 29,25 ^b | 1341,79 ± 27,53 ^a | 1080,68 ± 42,11 ^b |
| 60/420 | 65,96 ± 1,66 ^c | 139,31 ± 2,02 ^a | 73,56 ± 1,37 ^b | 1076,49 ± 32,18 ^b | 1533,45 ± 71,15 ^a | 1141,21 ± 48,92 ^b |
| 70/490 | 65,85 ± 1,06 ^c | 140,70 ± 2,57 ^a | 75,06 ± 0,89 ^b | 974,10 ± 18,07 ^b | 1063,67 ± 67,36 ^a | 1061,35 ± 28,69 ^a |

Os dados representam a média ± desvio padrão (base seca). Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem estatisticamente entre si com 95% de significância, pelo teste de Tukey.

5.9. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS), Parâmetros de Cor e Composição Mineral da Polpa de Açai

As análises para se caracterizar as superfícies morfológicas e as microanálises elementares da polpa liofilizada de açai foram realizadas em tempo suficiente e necessário para serem obtidos depósitos de espessuras estimadas da ordem de 2 mm. As Figuras 3A/3B, 4A/4B e 5A/5B mostram a superfície da estrutura e o espectro de EDS correspondente da polpa de açai, para tempos de deposição de 60 minutos e para o espectro de 5 minutos. A Tabela 5, apresenta os teores percentuais dos elementos químicos determinado pelo espectro em espessuras estimadas da ordem de 80 µm da amostra do MEV.

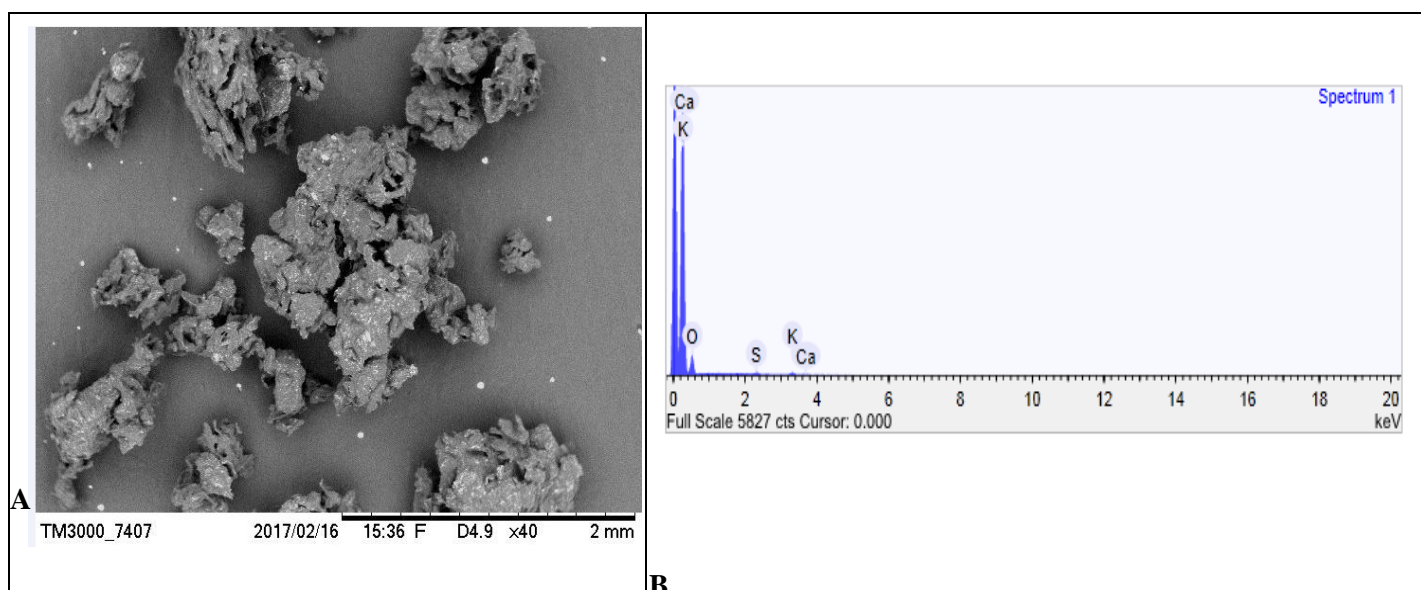


Figura 3- Estrutura da superfície da polpa de açai da localidade Anajás.
A – MEV da superfície, com aumento de 40 x; B – espectro de EDS para a área analisada.

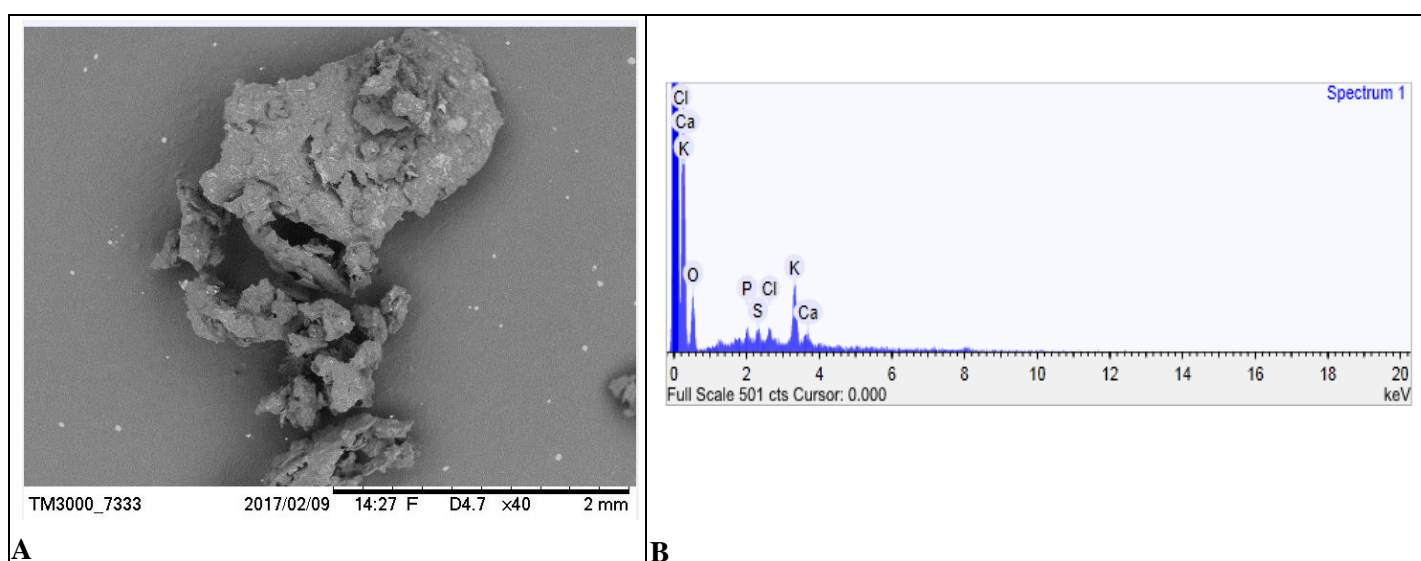


Figura 4- Estrutura da superfície da polpa de açai da localidade Chaves.
A – MEV da superfície, com aumento de 40 x.
B – espectro de EDS para a área analisada.

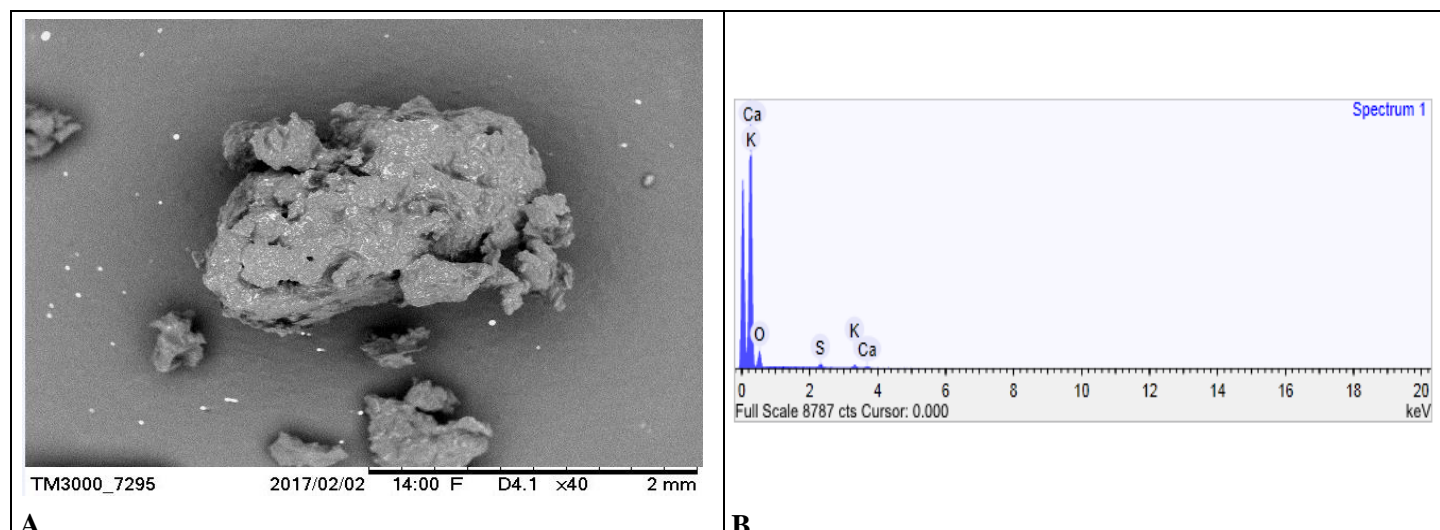


Figura 5- Estrutura da superfície da polpa de açai da localidade Saracá.

A – MEV da superfície, com aumento de 40 x.

B – espectro de EDS para a área analisada.

Tabela 5- Porcentagem dos elementos presentes nos depósitos obtidos da polpa liofilizada de açai de cada localidade.

| Elementos | Anajás | Chaves | Saracá |
|-----------|--------|--------|--------|
| % O | 90,398 | 72,930 | 85,943 |
| % S | 3,783 | 2,903 | 5,523 |
| % K | 4,397 | 15,715 | 5,593 |
| % Ca | 1,422 | 2,443 | 2,941 |
| % Cl | - | 3,060 | - |
| % P | - | 2,949 | - |

Nas Figuras 3A a 5A, estão apresentadas as imagens obtidas por MEV exibindo a forma e o aspecto das partículas da polpa de açai. Observa-se que as partículas apresentaram formas e tamanhos variados, mostrando irregularidades em sua estrutura e é possível concluir que a fibra do açai apresenta rugosidades (porosidades) e pontos luminosos que pode ser pela presença de materiais lipídicos para todas as localidades. Os pontos, destacados nas Figuras 3B a 5B, foram analisados quanto à composição química através da Espectroscopia de Energia Dispersiva de raios-X, o qual demonstra que há presença destacada de oxigênio, potássio e cálcio.

Pode-se observar na Tabela 5, o elemento químico que apresentou um maior percentual para todas as localidades foi o oxigênio (O) e houve uma diferença no teor de potássio (K) para a localidade de Chaves em relação aos municípios de Anajás e Saracá, onde a polpa de açai do município de Chaves também apresentou mais dois elementos químicos o cloro (Cl) e o fósforo (P). A presença do oxigênio era prevista, pois é um elemento presente em fibras de matérias

vegetais as quais são formadas por componentes estruturais e componentes não-estruturais, tais como água e minerais.

Na Tabela 6, são apresentados os valores médios dos parâmetros colorimétricos da polpa de açaí liofilizada. As polpas das três localidades de coleta dos frutos apresentaram valores baixos para a coordenada L^* , indicando que as amostras apresentaram tendência à coloração roxa, tendendo ao preto. Não havendo variações significativas entre as localidades.

Tabela 6- Parâmetros colorimétricos da polpa de açaí.

| Localidade | L^* | a^* | b^* | Croma | ΔE | Ângulo Hue |
|--------------------------|--------------------|-------------------|-------------------|-------------------|------------|------------|
| Anajás/polpa liofilizada | $12,56 \pm 0,29^a$ | $1,47 \pm 0,13^c$ | $2,92 \pm 0,05^a$ | $3,22 \pm 0,01^b$ | 12,97 | 0,03 |
| Chaves/polpa liofilizada | $12,87 \pm 0,30^a$ | $5,66 \pm 0,09^a$ | $2,70 \pm 0,08^a$ | $3,77 \pm 0,02^b$ | 15,07 | 0,04 |
| Saracá/polpa liofilizada | $12,14 \pm 0,34^a$ | $4,23 \pm 0,24^b$ | $3,16 \pm 0,06^a$ | $5,27 \pm 0,04^a$ | 12,34 | 0,01 |

Dados expressos a média \pm desvio-padrão. Médias seguidas da mesma letra, nas colunas, não diferem pelo teste de a 95% de probabilidade.

Em relação ao parâmetro a^* , os valores foram positivos, indicando que as amostras tendem ao vermelho, com destaque a polpa dos frutos da localidade Chaves, pois apresentou valores superiores em comparação as localidades Anajás e Saracá. Além disso, os valores encontrados na polpa dos frutos da localidade Chaves, foram pelo menos duas vezes superiores ao encontrado na polpa de açaí por Cipriano (2011) de 2,63. Para a coordenada b^* , a amostra mais próxima ao roxo foi Chaves, com valor médio igual a $2,70 \pm 0,08$.

Quanto aos valores observados para o parâmetro croma, que define intensidade e pureza da cor como um todo, as polpas liofilizadas de açaí das localidades Anajás e Chaves são semelhantes entre si. Todavia, a polpa da localidade Saracá se diferencia das demais localidades, com valor superior em relação as demais localidades estudadas. Nesse sentido, os valores apresentaram cor saturada e pura em relação ao branco, com intensidade e tonalidade para o vermelho. O parâmetro $^\circ$ Hue que representa a tonalidade da cor, foram todos positivos, entretanto, estão próximos ao zero, representando a faixa de cor entre o vermelho e roxo, porém próximo a cor rosa.

Quanto as características colorimétricas, a cor dos alimentos é um atributo de qualidade, não só servindo de base para a identificação e aceitação de parâmetros de qualidade pós processamento, mais possivelmente operando como indicador da concentração de pigmentos presentes na polpa dos frutos de açaí pós processamento liofilizada.

Em relação aos minerais, obtiveram-se os seguintes resultados apresentados na Tabela 7.

Tabela 7 - Composição mineralógica das polpas liofilizadas de açaí dos três municípios

| Minerais | Média ($\mu\text{g/g}$) | | |
|-----------|------------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------|
| | Anajás | Chaves | Saracá |
| <i>Ca</i> | 4951,55 \pm 563,16 ^{ab} | 5233,20 \pm 1246,42 ^{ab} | 5540,41 \pm 994,45 ^a |
| <i>Mg</i> | 1018,02 \pm 204,26 ^a | 1191,93 \pm 64,89 ^a | 1116,18 \pm 8,16 ^a |
| <i>Mn</i> | 0,61 \pm 0,08 ^b | 0,45 \pm 0,01 ^c | 0,90 \pm 0,04 ^a |
| <i>Zn</i> | 16,97 \pm 3,00 ^b | 17,09 \pm 0,49 ^b | 24,06 \pm 4,25 ^a |
| <i>Fe</i> | 59,86 \pm 7,85 ^b | 45,85 \pm 1,82 ^c | 137,79 \pm 22,58 ^a |
| <i>Cu</i> | 25,56 \pm 1,33 ^b | 26,01 \pm 0,29 ^b | 29,69 \pm 2,55 ^a |

Dados expressos a média \pm desvio-padrão. Médias seguidas da mesma letra, nas linhas, não diferem pelo teste de a 95% de probabilidade.

Com os resultados do perfil de minerais pode ser observado que os elementos Ca e Mg na polpa liofilizada do açaí das três regiões estudadas foram os mais abundantes, com concentrações que variaram de 4951,55 $\mu\text{g/g}$ a 5540,41 $\mu\text{g/g}$. A concentração de Fe na polpa de açaí, apresentou um valor maior para localidade de Saracá em relação as outras duas localidades. Segundo Yuyama et al. (2011), relatam que apesar da concentração de Fe no suco de açaí seja baixa, os atributos inerentes ao fruto como fonte de energia e o colocam como destaque por estar ajudando os grupos populacionais da Amazônia.

6. CONCLUSÃO

O óleo de polpa de açaí liofilizado de três municípios da região norte do Pará-Brasil, obtido por extração supercrítica de CO₂, nas seguintes condições experimentais: 50 °C/350 bar, 60 °C/420 bar e 70 °C/490 bar foram estudados para avaliar os efeitos da temperatura, pressão e localização geográfica no rendimento global e na composição de ácidos graxos. As composições de ácidos graxos do óleo de açaí obtidas neste estudo confirmam a semelhança com os teores encontrados no azeite de oliva descritos na literatura, que também sofrem influência do ambiente e da localização geográfica. O efeito na composição de ácidos graxos do óleo de açaí foi mais acentuado pela localização geográfica do que as condições de operação de extração. As prováveis composições de TAGs do óleo, previstas com base no perfil de composição de ácidos graxos, apresentaram a maioria dos TAGs com os mesmos níveis encontrados pela análise cromatográfica dos óleos de oliva e bacaba. Os principais TAGs previstos, representando mais de 85% da composição total, que são: OOO, POO, OLiO, PLiO e POP. Os maiores rendimentos foram obtidos com o óleo de açaí da localidade de Chaves que variaram de $55,71 \pm 0,22$ a 50 ° C/350 bar. A equação de estado de Peng Robinson foi selecionada para prever a solubilidade do sistema multicomponente óleo de açaí /CO₂ com base nas composições de ácidos graxos da localidade de Chaves. Os valores de solubilidade do óleo de açaí nas mesmas condições operacionais dos experimentos de rendimento global mostraram o mesmo comportamento dos rendimentos globais que aumentam com o aumento da pressão e da temperatura. Os índices de aterogenicidade e trombogenicidade, assim como a relação h/H, sugerem que o óleo de açaí pode influenciar positivamente na prevenção de riscos de problemas cardiovasculares. Para os compostos fenólicos totais, antocianinas totais e capacidade antioxidante obtida antes e após a extração com CO₂ supercrítico, os melhores resultados foram alcançados sob o condições de extração de 60 °C/420 bar e 70 °C/490 bar para a localidade de Chaves, que contribui para o óleo de açaí, junto com as antocianinas, um efeito antioxidante e protetor contra muitas doenças, principalmente doenças como o câncer.

Além disso, a polpa liofilizada do açaí das três diferentes localidades reúne características em sua estrutura, de formas irregulares completamente porosas indicando um vegetal fibroso, tal como a presença do elemento químico oxigênio em abundância na sua composição. Quanto as características colorimétricas, a cor do açaí é um atributo de qualidade, não só servindo de base para a identificação e aceitação de parâmetros de qualidade pós processamento, mais possivelmente atuando como indicador da concentração de pigmentos a

exemplo das antocianinas. Portanto, com base nos resultados obtidos de minerais as polpas indicam que os frutos de açaí podem ser consideradas como uma boa fonte de Ca e Mg.

7. REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, C. L. C. **Extração supercrítica de matrizes vegetais oleaginosas: rendimento global, cinética de extração, composição química e atividade.** Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos (UNICAMP/FEA), 2008.
- ALVAREZ, M. V.; CABRED, S.; RAMIREZ, C. L.; FANOVICH, M. A. Valorization of an agroindustrial soybean residue by supercritical fluid extraction of phytochemical compounds. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 143, p. 90-96, 2019.
- AMARAL, J.S.; MAFRA, I.; OLIVEIRA, M.B.P.P. Characterization of three portuguese varietal olive oils based on fatty acids, triacylglycerols, phytosterols and vitamin e profiles: application of chemometrics. *Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention*, p. 581–589, 2010.
- AOCS. Official Method Ce 1-62: Fatty acid composition by gas chromatography American Oil Chemists' Society. Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society. 4th ed. Champaign, USA, 1995.
- AOCS. Official Method Ce 2-66: Preparation of methyl esters of long chain fatty acids American Oil Chemists' Society. Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society. 4th ed. Champaign, USA, 1995.
- ARANDA, F.; GÓMEZ-ALONSO, S.; RIVERA DEL ÁLAMO, R.M.; SALVADOR, M.D.; FREGAPANE, G. Triglyceride, total and 2-position fatty acid composition of Cornicabra virgin olive oil: comparison with other Spanish cultivars. **Food Chem.**, v. 86, p. 485–492, 2004.
- ARAÚJO, M.E.; MEIRELES, M.A.A. Improving phase equilibrium calculation with the Peng-Robinson EOS for fats and oils related compounds/supercritical CO₂ systems. **Fluid Phase Equilibria**, v.169, p. 49–64, 2000.
- ASAE. Standards, Method of Determining and Expressing Fineness of Feed Materials by Sieving, ASAE S319.3, pp. 547, 1998.
- ATKINS, P.W. *Físico-Química – Fundamentos*, 3.ed. Rio de Janeiro: LTC Editora, 2003.
- ATTIA, Y.A.; AL-HARTHI, M.A.; KORISH, M.A.; SHIBOUB, M.M. Fatty acid and cholesterol profiles, hypocholesterolemic, atherogenic, and thrombogenic indices of broiler meat in the retail market. **Lipids Health Dis.**, v. 16, p. 40, 2017.
- BALLESTEROS-VIVAS MEIRELES, M. A. A. Supercritical extraction from solid: process design data (2001– 2003). **Current Opinion in Solid State and Materials Science**, v. 7, n. 4, p. 321-330, 2003.
- BALLESTEROS-VIVAS, D.; MENDIOLA, J. A.; IBÁÑEZ, E. Extraction: Supercritical Fluid Extraction. *Encyclopedia of Analytical Science*, 3rd Edition, p.1-7, 2018.
- BASTOS, D. H. M.; ROGERO, M. M.; ARÊAS, J. A. G. Mecanismos de ação de compostos bioativos dos alimentos no contexto de processos inflamatórios relacionados à obesidade. **Arq Bras Endocrinol Metab.**53/5, p. 646-656, 2009.
- BATISTA, C.C.R.; OLIVEIRA, M.S.; ARAÚJO, M.E.; RODRIGUES, A.M.C.; BOTELHO, J.R.S.; SOUZA FILHO, A.P. S. S.; MACHADO, N.T., CARVALHO Jr., R.N. Supercritical

CO₂ extraction of açai (Euterpe oleracea) berry oil: Global yield, fatty acids, allelopathic activities, and determination of phenolic and anthocyanins total compounds in the residual pulp. **J. Supercrit. Fluids**, 107, 364–369, 2015.

BHUSNURE O. G., GHOLVE S.B., GIRAM P. S., BORSURE V. S., JADHAV P. P., SATPUTE V. V., SANGSHETTI, J. N. Importance of supercritical fluid extraction techniques in pharmaceutical industry: a review. **Indo American Journal of Pharmaceutical Research**, v. 5, p. 3785-3801, 2015.

BOLDT, J. K.; MEYER, M. H.; ERWIN, J. E. Foliar Anthocyanins: A Horticultural review. First Edition. Horticultural Reviews, v. 42, p. 209-251, 2014.

BONFIGLI, M.; GODOY, E.; REINHEIMER, M.A.; SCENNA, N.J. Comparison between conventional and ultrasound-assisted techniques for extraction of anthocyanins from grape pomace. Experimental results and mathematical modeling. **Journal of Food Engineering**, v. 207, p. 56 – 72, 2017.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, p. 25–30, 1995.

BRITO, E. S.; ARAÚJO, M. C. P.; ALVES, R. E.; CARKEET, C.; CLEVIDENCE, B. A.; NOVOTNY, J. A. Anthocyanins present in selected tropical fruits: acerola, jabolão, jussar and guajiru. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.55, p.9389-9394, 2007.

BRUNNER, G. Gas extraction: An Introduction to fundamentals of supercritical Fluids and the Application to Separation Process. 1ª. Ed. Darmstadt, Alemanha: Steinkopff, 387 p., 1994.

BRUNNER, G. Supercritical fluids: technology and application to food processing. **J. Food Eng.**, v.67, pp. 21-33, 2005.

CARBONELL-CAPELLA, J. M.; BUNIEWSKA, M.; BARBA, F. J.; ESTEVE, M. J.; FRÍGOLA, A. Analytical Methods for Determining Bioavailability and Bioaccessibility of Bioactive Compounds from Fruits and Vegetables: A Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 13, p. 155-171, 2014.

CAROCHO, M.; FERREIRA, I. C. F. R. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. **Food and Chemical Toxicology**, v.51, p. 15–25, 2013.

CARVALHO, A. V.; SILVEIRA, T. F. F.; MATTIETTO, R. A.; OLIVEIRA, M. DO S. P.; GODOY, H. T. Chemical composition and antioxidant capacity of açai (Euterpe oleracea) genotypes and commercial pulps. **J. Sci. Food Agric.**, v.97, 1467-1474, 2017.

CAVALCANTI, R. N.; SANTOS, D. T.; MEIRELES; M. A. A. Non-thermal stabilization mechanisms of anthocyanins in model and food systems-An overview. **Food Research International**, v. 44, p. 499–509, 2011.

CIPRIANO, P. DE A. **Antocianinas de açai (Euterpe oleracea Mart.) e casca de jaboticaba (Myrciaria jaboticaba) na formulação de bebidas isotônicas** (Dissertação de mestrado). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2011.

CORNELIO-SANTIAGO, H. P.; GONÇALVES, C. B.; OLIVEIRA, N. A.; DE OLIVEIRA. A. L. Supercritical CO₂ extraction of oil from green coffee beans: Solubility, triacylglycerol

composition, thermophysical properties and thermodynamic modelling. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 128, p.386-394, 2017.

COSTA, H. C. B.; SILVA, D. O.; VIEIRA, L. G. M. Physical properties of açai-berry pulp and kinetics study of its anthocyanin thermal degradation. **Journal of Food Engineering**, v.239, p. 104–113, 2018.

CRUZ, A. P. G. **Avaliação do efeito da extração e da microfiltração do açai sobre sua composição e atividade antioxidante**. Rio de Janeiro: [s.n.] 2008, 104f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2008.

CUNHA, V.M.B.; SILVA, M.P.; MEIRELES. M.A.A; CARVALHO Jr., R. N.; MACHADO, N.T.; ARAÚJO, M.E. Lauric acid rich oil supercritical extraction and methodology to predict solubility. **Food Public Health**, v. 6, p. 26–32, 2016.

DE LA ROSA, L. A.; MORENO-ESCAMILLA, J. O.; RODRIGO-GARCÍA, J.; ALVAREZ-PARRILLA, E. Chapter 12 - Phenolic Compounds. Postharvest Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables, p. 253-271, 2019.

DE MELO, M. M. R.; SILVESTRE, A. J. D.; SILVA, C. M. Supercritical fluid extraction of vegetable matrices: Applications, trends and future perspectives of a convincing green technology. **The Journal of Supercritical Fluids**, v.92, p. 115–176, 2014.

DEL POZO-INSFRAN, D.; BRENES, C. H.; TALCOTT, S. T. Phytochemical composition and pigment stability of açai (*Euterpe oleracea* Mart.). **Journal of Food Chemistry**, v.52, p.1539-1545, 2004.

EL-GHARBI, S.; TEKAYA, M.; BENDINI, A.; VALLI, E.; PALAGANO, R.; HAMMAMI, M.; TOSCHI, T.G.; MECHRI, B. Effects of geographical location on chemical properties of zarazi virgin olive oil produced in the south of Tunisia, Am. **J. Food Sci. Technol**, v. 6 (6), p. 228–236, 2018.

FENNEMA, O.W. *Química de Alimentos*, 4ª. Edição, Artmed, p. 599-600, 2010.

FILHO, N.R.A.; MENDES, O.L.; LANÇAS, F.M. Computer prediction of triacylglycerol composition of vegetable oils by HRGC. **Chromatographia**, v. 40, p. 557–562, 1995.

FOSCOLOU, A.; CRITSELIS, E.; PANAGIOTAKOS, D. Olive oil consumption and human health: A narrative review. **Maturitas**, v.118, p. 60–66, 2018.

FRAGOSO, M. F.; PRADO, M. G.; BARBOSA, L.; ROCHA, N. S.; BARBISAN, L. F. Inhibition of Mouse Urinary Bladder Carcinogenesis by Açai Fruit (*Euterpe oleraceae* Martius) Intake. **Plant Foods Hum Nutr.**, v. 67, p. 235–241, 2012.

FREGONESI, B. M.; YOKOSAWA, C. E.; OKADA, I. A.; MASSAFERA, G.; BRAGA COSTA, T. M.; PRADO, S. P. T. Polpa de açai congelada: características nutricionais, físico-químicas, microscópicas e avaliação da rotulagem. **Rev Inst Adolfo Lutz.**; v.69, p.387-395, 2010.

GALLORI, S.; BILIA, A. R.; BERGONZI, M. C.; BARBOSA, W. L. R.; VINCIERI, F.F. Polyphenolic constituents of fruit pulp of *Euterpe oleracea* Mart. (açai palm). **Chromatographia**, v.59, n.11/12, p.739-743, 2004.

- GIUSTI, M.M.; WROLSTAD, R.E. Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**, v. 00, p. F1.2.1-F1.2.13, 2001.
- GOODRUM, J.W.; KILGO, M.B. Peanut oil extraction with SCCO₂: Solubility and kinetic functions, Transactions of the ASAE. **American Society of Agricultural Engineers**, v. 30 (6), p. 1865–1868, 1987.
- GOUVÊA, A. C. M. S., ARAUJO, M. C. P., SCHULZ, D. F., PACHECO, S., GODOY, R. L. O.; CABRAL, L. M. C. Anthocyanins standards (cyanidin-3-O-glucoside and cyaniding-3-O-rutinoside) isolation from freeze-dried açai (*Euterpe oleracea* Mart.) by HPLC. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.32, p.43–46, 2012.
- GOYENECHE, R.; FANOVICH, A.; RODRIGUES, C. R.; NICOLAO, M. C.; SCALA, K. D. Supercritical CO₂ extraction of bioactive compounds from radish leaves: Yield, antioxidant capacity and cytotoxicity. **The Journal of Supercritical Fluids**, v.135, p. 78–83, 2018.
- GOYENECHEA, R.; FANOVICH, A.; RODRIGUES, C. R.; NICOLAO, M. C.; SCALA, K. D. Supercritical CO₂ extraction of bioactive compounds from radish leaves: GUPTA, R. B.; SHIM, J-J. Solubility in supercritical carbon dioxide. CRC Press, p. 52, 2006.
- GRAY, B.; STEYN, F.; DAVIES, P.S.W.; VITETTA, L. Omega-3 fatty acids: a review of the effects on adiponectin and leptin and potential implications for obesity management, **Eur. J. Clin. Nutr.**, v. 67, p. 1234–1242, 2013.
- GUPTA, R. B.; SHIM, J-J. Solubility in supercritical carbon dioxide. CRC Press, p. 52, 2006.
- HEINRICH, M.; DHANJI, T.; CASSELMAN, I. Açai (*Euterpe oleracea* Mart.)-A phytochemical and pharmacological assessment of the species' health claims. **Phytochemistry Letters**, v. 4, p. 10–21, 2011.
- HOMMA, A. E. O.; FRAZÃO, D. A. C. O. Despertar da fruticultura amazônica. Fruticultura em Revista. Novembro, p. 27-31, 2002.
- IBÁÑEZ, E.; MENDIOLA, J. A.; CASTRO-PUYANA, M. Supercritical Fluid Extraction. **Encyclopedia of Food and Health**, p. 227-233, 2016.
- INDELICATO, S.; BONGIORNO, D.; PITONZO, R.; DI STEFANO, V.; CALABRESE, V.; INDELICATO, S.; AVELLONE, G. Triacylglycerols in edible oils: determination, characterization, quantitation, chemometric approach and evaluation of adulterations, **J. Chromatogr. A.**, v. 1515, p. 1-16, 2017.
- IRONDI, E. A.; OBOH, G.; AKINDAHUNSI, A. A.; BOLIGON, A. A.; ATHAYDE, M. L. Phenolics composition and antidiabetic property of *Brachystegia eurycoma* seed flour in high-fat diet, low-dose streptozotocin-induced type 2 diabetes in rats. **Asian Pac J Trop Dis**, 5 (Suppl 1): p.S159-S165, 2015.
- JAHONGIR, H.; MIANSONG, Z.; AMANKELDI, I.; YU, Z.; CHANGHENG, L. The influence of particle size on supercritical extraction of dog rose (*Rosa canina*) seed oil. **Journal of King Saud University – Engineering Sciences**, v. 31, p. 1–4, 2019.

- JESUS, S. P.; CALHEIROS, M. N.; HENSE, H.; MEIRELES, M.A. A Simplified Model to Describe the Kinetic Behavior of Supercritical Fluid Extraction from a Rice Bran Oil Byproduct. **Food and Public Health**; 3(4):215-222, 2013.
- JIAO, G.; KERMANSHAHI, A. Extraction of anthocyanins from haskap berry pulp using supercritical carbon dioxide: Influence of co-solvent composition and pretreatment. **LWT - Food Science and Technology**, v.98, p. 237–244, 2018.
- KARABIN, M.; HUDCOVA, T.; JELINEK, L.; DOSTALEK, P. Biotransformations and biological activities of hop flavonoids. **Biotechnol. Adv.**, v. 33, p. 1063–1090, 2015.
- KING, M.B; BOTT, T.R. Compressed and liquefied gases as solvents: the commercial applications, in: M.B. King, T.R. Bott (Eds.), *Extraction of Natural Products Using Near-Critical Solvents*. Blackie Academic & Professional, Glasgow, pp. 19–23. 1995.
- LANG, Q.; WAI, C.M. Supercritical fluid extraction in herbal and natural product studies - a practical review. **Talanta**, v. 53, p. 771-782, 2001.
- LICHTENTHÄLER, R.; RODRIGUES, R. B.; MAIA, J. G. S.; PAPAGIANNPOULOS, M; FABRICIUS, H.; MARX, F. Total oxidant scavenging capacities of Euterpe oleracea Mart. (açai) fruits. **Int. J. Food Sci. Nutr.**, v.56, n.1, p.53-64, 2005.
- LITCHFIELD, C. Analysis of triglycerides, New York and London. Librar Y of Congress Catalog Card Number: 72-77334. Printed in the United States of America, 1st edition, Academic Press, 1972, pp. 8–249 ISBN: 9780323153522.
- LIU, J.; JI, F.; CHEN, F.; GUO, W.; YANG, M.; HUANG, S.; ZHANG, F.; LIU, Y. Determination of garlic phenolic compounds using supercritical fluid extraction coupled to supercritical fluid chromatography/tandem mass spectrometry. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 159, p. 513–523, 2018.
- LOBO, A. C. M.; VELASQUE, L. F. L. Revisão de literatura sobre os efeitos terapêuticos do açai e sua importância na alimentação. **Biosaúde, Londrina**, v. 18, n. 2, p. 97-106, 2016.
- MARTINS, N.; PETROPOULOS, S.; FERREIRA, I. C. F. R. Chemical composition and bioactive compounds of garlic (*Allium sativum* L.) as affected by pre- and post-harvest conditions: A review. **Food Chemistry**, v. 211, p. 41–50, 2016.
- MAUL, A.A.; WASICKY, R.; BACCHI, E.M. Extração por fluido supercrítico. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 5, p. 185-200, 1996.
- MEIRELES, M. A. A. Supercritical extraction from solid: process design data (2001– 2003). **Current Opinion in Solid State and Materials Science**, v. 7, n. 4, p. 321-330, 2003.
- MENESES, M. A.; CAPUTO, G.; SCOGNAMIGLIO, M.; REVERCHON, E.; ADAMI, R. Antioxidant phenolic compounds recovery from *Mangifera indica* L. by-products by supercritical antisolvent extraction. **Journal of Food Engineering**, v.163, p. 45–53, 2015.
- MENEZES, E. M. S. **Efeito da alta pressão hidrostática em polpa de açai pré-congelada (*Euterpe oleracea* Mart.)**. [Dissertação de mestrado]. Rio de Janeiro: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro; 2005.
- MENEZES, E. M. S.; TORRES, A. T.; SRUR, A. U. S. Valor nutricional da polpa de açai (*Euterpe oleracea* Mart.) liofilizada. **Acta Amazônica**, v.38, n.2, p. 311-316, 2008.

MILLER, N.J.; RICE-EVANS, C.; DAVIES, M.J.; GOPINATHAN, V.; MILNER, A. A Novel Method for Measuring Antioxidant Capacity and its Application to Monitoring the Antioxidant Status in Premature Neonates. **Clinical Science**, v. 84, p. 407–412, 1993.

MINOLTA. Precise color communication: Color control of from perception to instrumentation. Japan: Minolta Co. LTDA, 1998.

MIYAZAWA, M.; PAVAN, M. A.; MURAOKA, T.; CARMO, C. A. F. S. DO, MELO, W. J. Análise química de tecido vegetal. In: Silva, F. F. C. da (Ed.). Manual de análises químicas de solos plantas e fertilizantes (2. ed.). Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2009.

MONGE-FUENTES, V.; MUEHLMANN, L. A.; LONGO, J. P. F.; SILVA, J. R.; FASCINELI, M. L.; SOUZA, P.; FARIA, F.; DEGTEREV, I. A.; RODRIGUEZ, A.; CARNEIRO, F. P.; LUCCI, C. M.; ESCOBAR, P.; AMORIM, R. F. B.; AZEVEDO, R.B. Photodynamic therapy mediated by acai oil (*Euterpe oleracea* Martius) in nanoemulsion: A potential treatment for melanoma. **Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology**, v. 166, p. 301–310, 2017.

MOURA, P.M.; PRADO, G.H.C.; MEIRELES, M. A. A.; PEREIRA, C.G. Supercritical fluid extraction from guava (*Psidium guajava*) leaves: Global yield, composition and kinetic data. **J. of Supercritical Fluids**, v. 62. P. 116– 122, 2012.

MOURA, R. S.; RESENDE, A. C. Cardiovascular and metabolic effects of açai, an Amazon plant. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, v. 68(1), p.19-26, 2016.

MUKHOPADHYAY, M. Natural Extracts Using Supercritical Carbon Dioxide. Cap.1: Importance of Nature's Cure. Boca Raton, London New York Washington: CRC Press, 2000.

NASCIMENTO, R. J. S. do; COURI, S.; ANTONIASSI, R.; FREITAS, S. P. Composição em ácidos graxos do óleo da polpa de açai extraído com enzimas e com hexano. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.30, p. 498-502, 2008.

NASCIMENTO, K. S.; SATTTLER, J. A. G.; MACEDO, L. F. L.; GONZÁLEZ, C. V. S.; MELO, I. L. P.; ARAÚJO, E. S.; GRANATO, D.; SATTTLER, A.; ALMEIDA-MURADIAN, L. B. Phenolic compounds, antioxidant capacity and physicochemical properties of Brazilian *Apis mellifera* honeys. **LWT - Food Science and Technology**, v.91, p. 85–94, 2018.

NETZ, P.A.; ORTEGA, G.G. Fundamentos de Físico-Química: Uma Abordagem Conceitual para as Ciências Farmacêuticas. Porto Alegre: Artmed, 2002.

NORRIS, F.A.; MATTIL, K.F. A new approach to the glyceride structure of natural fats. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, v. 24, p. 274–275, 1947.

OLIVEIRA, M. do S. P.; NETO, J. T. F.; MOCHIUTTI, S.; NASCIMENTO, W.M.O; MATTIETTO, R. A.; PEREIRA, J.E.S. Açai-do-para. In: LOPES, R.; OLIVEIRA, M. do S.P.; CAVALLARI, M.M.; BARBIERI, R.L.; CONCEIÇÃO, L.D.H.C.S. (Eds.), *Palmeiras Nativas do Brasil*. Embrapa, Brasília, p. 35-81, 2015.

OLIVEIRA, M. DO S.P.; SCHWARTZ, G. Açai—*Euterpe oleracea*. *Exotic Fruits*, p. 1-5, 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-803138-4.00002-2>.

- OLLIVIER, D.; ARTAUD, J.; PINATEL, C.; DURBEC, J.-P.; GUÉRÈRE, M. Differentiation of French virgin olive oil RDOs by sensory characteristics, fatty acid and triacylglycerol compositions and chemometrics. **Food Chem.**, v. 97, p. 382–393, 2006.
- PACHECO-PALENCIA, L. A.; HAWKEN, P.; TALCOTT, St. Juice matrix composition and ascorbic acid fortification affects on the phytochemical, antioxidant and pigment stability of açai (Euterpe oleracea Mart.). **Food Chemistry**, v.105, p.28-35, 2007.
- PAES, J.; DOTTA, R.; BARBERO, G.F.; MARTÍNEZ, J. Extraction of phenolic compounds and anthocyanins from blueberry (*Vaccinium myrtillus* L.) residues using supercritical CO₂ and pressurized liquids. **J. Supercrit. Fluids**, v. 95, p. 8–16, 2014.
- PALÁCIO, V.; SAMPAIO, E.; FERNANDES, A.; MORAES, M.; FHAL, I.; LAMP, C. Valores nutricionais do açai: uma revisão literária no contexto da nutrição esportiva. **Ciência & Consciência**; Brasília, DF, 2008.
- PALAZOGLU, T.K.; BALABAN, M.O. Supercritical CO₂ extractions of lipids from roasted pistachio nuts, Transactions of the ASAE. **American Society III Agricultural Engineers**, v. 41 (3), p. 679–684 1998.
- PEREIRA, C.G.; MEIRELES, M.A.A. Supercritical fluid extraction of bioactive compounds: fundamentals, applications and economic perspectives. **Food and Bioprocess Technology**, v.3, p. 340-372, 2010.
- PEREIRA, P.; BERNARDO-GIL, M. G.; CEBOLA, M. J.; MAURICIO, E.; ROMANO, A. Supercritical fluid extracts with antioxidant and antimicrobial activities from myrtle (*Myrtus communis* L.) leaves. Response surface optimization. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 83, p. 57– 64, 2013.
- PINTO, G. M. F.; PINTO, J. F.; JARDIM, I. C. S. F. Extração com Fluido Supercrítico. **Chemkeys**. Licenciado sob Creative Commons (BY-NC-SA), p. 1-13, 2006.
- PINTO, R. H. H.; SENA, C.; SANTOS, O.V.; Da COSTA, W.A.; RODRIGUES, A. M. C.; CARVALHO Jr., R. N. Extraction of bacaba (*Oenocarpus bacaba*) oil with supercritical CO₂: Global yield isotherms, fatty acid composition, functional quality, oxidative stability, spectroscopic profile and antioxidant activity. **Grasas y Aceites**, v. 69 (2), p. 1-8, 2018. doi.org/10.3989/gya.0883171.
- POMPEU, D.R.; SILVA, E.M.; ROGEZ, H. Optimisation of the solvent extraction of phenolic antioxidants from fruits of *Euterpe oleracea* using Response Surface Methodology. **Bioresource Technology**, v.100, p. 6076–6082, 2009.
- PORTINHO, J. A.; ZIMMERMANN, L. M.; BRUCK, M. R. Beneficial effects of açai. **International Journal of Nutrology**, v.5, n.1, p. 15-20, 2012.
- PREEDY, V.R.; WATSON, R.R. Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention. 1st edition, Kindle Edition, pp. 582–880 ISBN: 978-0-12-374420-3, 2010.
- QUISPE-CONDORI, S. **Determinação de parâmetros de processo nas diferentes etapas da extração supercrítica de produtos naturais: Artemisia annua, Cordia verbenacea, Ocimum selloi e Foeniculum vulgare**. Tese (Doutorado), Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, 239 p., 2005.

- REVERCHON, E.; DE MARCO, I. Supercritical fluid extraction and fractionation of natural matter. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 38, p. 146-166, 2006.
- ROGEZ, H. Açaí: Preparo, Composição e Melhoramento da Conservação. Belém (Pará): Ed. Universidade Federal do Pará – EDUPA; 2000.
- SÁNCHEZ-CAMARGO, A. P.; J. MENDIOLA, A.; IBÁÑEZ, E.; HERRERO, M. Supercritical Fluid Extraction. **Molecular Sciences and Chemical Engineering**, p. 1-17, 2014.
- SANTO, A. P. do E.; SILVA, R. C.; SOARES, F. A. S. M.; ANJOS, D.; GIOIELLI, L. A.; OLIVEIRA, M. N. Açaí pulp addition improves fatty acid profile and probiotic viability in yoghurt. **International Dairy Journal**, v. 20, p. 415–422, 2010.
- SANTOS, G. M.; MAIA, G. A.; SOUSA, P. H. M.; COSTA, J. M. C.; FIGUEIREDO, R. W.; PRADO, G. M. Correlação entre atividade antioxidante e compostos bioativos de polpas comerciais de açaí (*Euterpe oleracea* Mart). ARCHIVOS LATINO AMERICANOS DE NUTRICION: **Organo Oficial de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición**, v. 58 N° 2, p. 187-192, 2008.
- SANTOS-SILVA, J.; BESSA, R. J.; SANTOS-SILVA, F. Effect of genotype, feeding system and slaughter weight on the quality of light lambs. **Livest. Prod. Sci.**, v.77, 187–194, 2002.
- SCHAUSS, A. G.; WU, X.; PRIOR, R. L.; OU, B.; PATEL, D.; HUANG, D.; KABABICK, J. P. Phytochemical and nutrient composition of freeze-dried Amazonian palm berry, *Euterpe oleracea* Mart. (açaí). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p.8598-8603, 2006.
- SHAHIDI, F.; AMBIGAIPALAN, P. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects – A review. *Journal of Functional Foods*, v. 18, , p. 820-897, 2015.
- SHINWARI, K. J.; RAO, P. S. Stability of bioactive compounds in fruit jam and jelly during processing and storage: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 75, p. 181–193, 2018.
- SILVA, M. L. C.; COSTA, R. S.; SANTANA, A. S.; KOBLITZ, M. G. B. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. *Semina: Ciências Agrárias, Londrina*, v. 31, n. 3, p. 669-682, jul./set. 2010.
- SILVA, R. P. F. F.; ROCHA-SANTOS, T. A. P.; DUARTE, A. C. Supercritical fluid extraction of bioactive compounds. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 76, p. 40–51, 2016.
- SINGLETON, V.L.; ROSSI, J.A. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, p.144 LP-158, 1965.
- SMITH, R.M. Supercritical fluids in separation science – the dreams, the reality and the future. **Journal of Chromatography A**, v. 856, p. 83-115, 1999.
- SOLANA, M.; BOSCHIERO, I.; DALL’ACQUA, S.; BERTUCCO, A. Extraction of bioactive enriched fractions from *Eruca sativa* leaves by supercritical CO₂ technology using different co-solvents. **J. of Supercritical Fluids**, v. 94, p. 245–251, 2014.
- SOUSA, E. M. B. D.; CHIAVONE-FILHO, O.; MORENO, M. T.; SILVA, D. N.; MARQUES, M. O. M.; MEIRELES, M. A. A. Experimental results for the extraction of essential oil from

Lippia sidoides Cham. using pressurized carbon dioxide. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 19, N°. 02, p. 229 - 241, 2002.

SOUZA, M. O.; SANTOS, R. C.; SILVA, M. E.; PEDROSA, M. L. Açaí (Euterpe oleraceae Martius): composição química e bioatividades. **Nutrire. J. Brazilian Soc. Food Nutr.**, São Paulo, SP, v. 36, n. 2, p. 161-169, ago. 2011.

SOUSA, S.H.B.; MATTIETTO, R.A.; CHISTÉ, R.C.; CARVALHO, A.V. Phenolic compounds are highly correlated to the antioxidant capacity of genotypes of Oenocarpus distichus Mart. Fruits. **Food Res. Int.**, v. 108, p. 405–412, 2018.

SOVOVA, H. Rate of the Vegetable Oil Extraction with Supercritical CO₂-I. Modelling of Extraction Curves. **Chemical Engineering Science**, v. 49, p. 409-414, 1994.

SUI, X.; ZHANG, Y.; JIANG, L.; ZHOU, W. Anthocyanins in Food. **Encyclopedia of Food Chemistry**, v. 2, p. 10-17, 2019.

TAO, Y.; ZHANG, Z.; SUN, D-W. Kinetic modeling of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from grape marc: Influence of acoustic energy density and temperature. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 21, p. 1461–1469, 2014.

TAVARES, G. dos S.; HOMMA, A. K. O. Comercialização do açaí no estado do Pará: alguns comentários. **Revista Eumednet**, p. 1-13, 2015.

TONON, R.V.; BRABET, C.; HUBINGER, M. D. Influência da temperatura do ar de secagem e da concentração de agente carreador sobre as propriedades físico-químicas do suco de açaí em pó. **Cienc Tecnol Aliment.**, v. 29(2), p. 444-50, 2009.

TSIMOGIANNIS, D.; OREOPOULOU, V. Chapter 16 - Classification of Phenolic Compounds in Plants (Second Edition). Polyphenols in Plants, Isolation, Purification and Extract Preparation, p. 263-284, 2019.

ULBRICHT, T.L.V. & SOUTHGATE, D.A.T. Coronary heart disease: seven dietary factors. **Lancet**, v.429 338, p. 985–992, 1991.

VALDÉS, A.; VIDAL, L.; BELTRÁN, A.; CANALS, A.; GARRIGÓS, M. C. Microwave-Assisted Extraction of Phenolic Compounds from Almond Skin Byproducts (Prunus amygdalus): A Multivariate Analysis Approach. **J. Agric. Food Chem.**, v. 63 (22), p. 5395–5402, 2015.

VASCONCELOS, M. S.; MOTA, E. F.; GOMES-ROCHETTE, N. F.; NUNES-PINHEIRO, D. C. S.; NABAVI, S. M.; MELO, D. F. Açaí or Brazilian Berry (Euterpe oleracea). Chapter 3.1. Nonvitamin and Nonmineral Nutritional Supplements, p. 131-133, 2019.

VELIČKOVIĆ, V.; ĐUROVIĆ, S.; RADOJKOVIĆ, M.; CVETANOVIĆ, A.; ŠVARC-GAJIĆ, J.; VUJIĆ, J.; TRIFUNOVIĆ, S.; MAŠKOVIĆ, P. Z. Application of conventional and non-conventional extraction approaches for extraction of Erica carnea L.: Chemical profile and biological activity of obtained extracts. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 128, p. 331-337, 2017.

WYCOFF, W.; LUO, R.; SCHAUSS, A. G.; KABABICK, J. N.; SABAA-SRUR, A. U. O.; MAIA, J. G. S.; TRAN, K.; RICHARDS, K. M.; SMITH, R. E. Chemical and nutritional

analysis of seeds from purple and white açai (*Euterpe oleracea* Mart.). **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 41, p. 181–187, 2015.

XIE, C.; KANGA, J.; LI, Z.; SCHAUSS, A. G.; BADGER, T. M.; NAGARAJAN, S.; WU, T.; WU, X. The açai flavonoid velutin is a potent anti-inflammatory agent: blockade of LPS-mediated TNF- α and IL-6 production through inhibiting NF- κ B activation and MAPK pathway. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 23, p. 1184–1191, 2012.

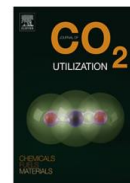
YAMAGUCHI, K.K.L.; PEREIRA, L.F.R.; LAMARÃO, C.V., LIMA, E.S.; VEIGA-JUNIOR, V. F. Amazon acai: chemistry and biological activities: a review. **Food Chem.**,v.179, p.137-151, 2015.

YUYAMA, L. K. O.; AGUIAR, J. P. L.; FILHO, D. F. S.; YUYAMA, K.; VAREJÃO, M. DE J.; FÁVARO, D. I. T.; VASCONCELLOS, M. B. A.; PIMENTEL, S. A.; CARUSO, M. S. F. Caracterização físico-química do suco de açai de *Euterpe precatoria* Mart. oriundo de diferentes ecossistemas amazônicos. **Acta Amazonica**, v. 41(4), p. 545 – 552, 2011.

ZHENG, J.; TIANA, W.; YANGA, C.; SHI, W.; CAO, P.; LONG, J.; XIAO, L.; WU, Y.; LIANG, J.; LI, X.; ZHAO, S.; ZHANG, K.; ZHI, H.; SUN, P. Identification of flavonoids in *Plumula nelumbinis* and evaluation of their antioxidant properties from different habitats. **Industrial Crops & Products**, v. 127, p. 36–45, 2019.



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of CO₂ Utilizationjournal homepage: www.elsevier.com/locate/jcou

Supercritical CO₂ extraction of lyophilized Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp T oil from three municipalities in the state of Pará, Brazil ^{Ch}



Marcilene P. Silva^a, Vania Maria B. Cunha^a, Sérgio Henrique B. Sousa^a,
Eduardo G. Ortiz Menezes^{a,b}, Priscila do Nascimento Bezerra^a, João T. de Farias Neto^c, Geraldo
N.R. Filho^d, Marilena E. Araújo^{a,b}, Raul N. de Carvalho Jr.^a

^a LABEX (Laboratory of Supercritical Extraction), Faculty of Food Engineering, Federal University of Pará, Belém, Pará, Brazil

^b TERM@ (Laboratory of Separation Processes and Applied Thermodynamic), Faculty of Chemical Engineering, Federal University of Pará, Belém, Pará, Brazil

^c Embrapa Amazônia Oriental, Belém, Pará, Brazil

^d Laboratory of Catalysis and Oil Chemistry, Department of Chemistry, Federal University of Pará, Belém, Pará, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:

Açai (*Euterpe oleracea*)
Fatty acids
Triacylglycerols
Solubility
Bioactive compounds

ABSTRACT

In this work supercritical CO₂ was applied to extract lyophilized açai (*Euterpe oleracea*) pulps (LAP) oil from three municipalities in the state of Pará, Brazil: Anajás, Chaves, and Saracá to evaluate the effects of temperature, pressure, and geographical localization on the global yield and fatty acid composition. The operational conditions were: 50 °C/350 bar, 60 °C/420, and 70 °C/490 bar. The bioactive compounds contents present in the pulp before and after the extraction were determined. The highest yields (57.06%) were obtained of LAP oil from Chaves. The effect on fatty acid composition of LAP oil was more accentuated by geographical location than CO₂-SE operating conditions. The triacylglycerols (TAGs) composition of the açai oil samples were predicted based on the fatty acid profile. The main TAGs predicted, representing more than 85% of the total composition, are OOO, POO, OLiO, PLiO and POP. The solubility values of açai oil predicted applying the Peng-Robinson equation of state at the same operating conditions of global yield experiments showed the same behavior of the global yields that increases as pressure and temperature increases. After the extractions, there was an increase of bioactive compounds concentrations and antioxidant capacity in the açai lyophilized pulp from all municipalities.

1. Introduction

Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) is a typical and popular fruit commonly found in várzea and igapó lands in the north of South America, mainly in the Amazon region. Its oleaginous fruits are used in the preparation of beverages widely consumed by the regional populations and its energy characteristic increases its economic potential [1,2]. It has been observed, in recent years, great interest and investments in research on this fruit, due to its beneficial health properties, such as bioactive compounds, antioxidant capacity, and phenolic compounds, especially anthocyanins [3,4]. The antioxidant effect is attributed to polyphenols, mainly the two main anthocyanins: cyanidin 3-glycoside and cyanidin 3-rutinoside [4–6], since it prevents some degenerative and cardio-vascular diseases [7–9]. Another notable feature of açai is its lipid profile, rich in monounsaturated (MUFA) and polyunsaturated (PUFA) fatty acids, similar to olive oil, with a much higher MUFA content in relation to PUFA [6,10,11]. According to Schauss, et al. [6,12] the

following fatty acids were found in *Euterpe oleracea*: MUFA (60.6%), where oleic acid is the major fatty acid found (56.2%), PUFA (13.3%), represented by linoleic acid (12.5%) and saturated fatty acids (26.1%) represented by palmitic acid (24.1%).

The great interest of food and pharmaceutical industries in oils with high content in MUFA and PUFA are related to diseases prevention [13–15]. Açai oil contains high oil content consisting mostly of oleic acid (O) which may be considered similar to olive oil. Triacylglycerols (TAGs) are the principal components of vegetable oils compositions (95–98%) and may contain different fatty acids in the glycerol backbone. The main TAG found in olive oil is triolein (OOO), which is composed of one molecule of glycerol and three oleic acid (O), with contents that vary with the variety, the environment and geographical location, with an average concentration in oleic acid with a range of 80.4% for samples from Spain and 68.3% from France, and an average concentration in OOO of 51.7% for samples from Spain and 35.8% for Aix-en-Provence variety from France samples [16,17]. Except Yuyama

Corresponding author.

E-mail address: raulncj@ufpa.br (R.N.d. Carvalho Jr.).

<https://doi.org/10.1016/j.jcou.2019.03.019>

Received 22 October 2018; Received in revised form 19 March 2019; Accepted 20 March 2019
Available online 30 March 2019

2212-9820/© 2019 Elsevier Ltd. All rights reserved.

et al. [18] who studied the changes in fatty acid composition of açai (Euterpe precatoria Mart.) oil from different localities, no information of environmental and geographical location influence on fatty acid composition of açai (Euterpe oleracea Mart.) oil was published. In addition, there is no data in the literature of the TAGs composition of açai oil.

Açai oil is generally obtained by conventional extraction using large amounts of organic solvents, in addition to requiring a long process time, which can lead to the thermolabile compounds degradation [19,20], becoming a more expensive final product. It is worth noting that, in addition to the açai fruit and its by-products industrially processed, they also have great potential for application due to their nutritional values [21]. Therefore, it is necessary to study methods that provide extracts free of residues while maintaining their properties of interest, providing high quality product. All of these characteristics are highlighted to the supercritical carbon dioxide extraction (CO₂-SE) as the superiority of the process over the conventional extraction using organic solvent has been extensively describes in the literature.

The application of supercritical technology using carbon dioxide as solvent to extract vegetable oils from fruits with occurrence in Amazon region, with indicated high nutritional values, have been studied by our research group [22,23]. Commercial açai (Euterpe oleracea) fruits, from unknown geographic region, were submitted to CO₂-SE at different temperatures (50–70 °C) and pressures (150–490 bar). The highest global yield was obtained in the 70 °C isotherm. The fatty acid profiles of lyophilized açai pulp oil obtained by CO₂-SE under different operating conditions showed that monounsaturated fatty acid (MUFA) was higher than polyunsaturated fatty acids (PUFA). The main MUFA was oleic acid (C18:1) with higher concentration (65.81%) at 50 °C/220 bar. As for PUFA linoleic (C18:2) was found only at 50 °C/350 bar (15.54%) and 70 °C/220 bar (12.59%). Only traces of linolenic acid (C18:3) were found in all experimental conditions. The best total phenolic compounds (TPC) result for the lyophilized pulp before and after CO₂-SE was obtained at 50 °C/350 bar condition and the best anthocyanin contents was at 50 °C/220 bar condition [22]. The specie *Oenocarpus bacaba* (Bacaba-de-leque), which belongs to the same Areaceae family of the açai palm, was submitted to CO₂-SE at different temperatures (50–60 °C) and pressures (150–420 bar) [23]. The maximum oil yields were reached at 50 °C/350 bar (45.23%) and 60 °C/270 bar (45.90%) which were higher than those obtained to açai (Euterpe oleracea) oil extracted with supercritical CO₂ at 50 °C/350 bar and 60 °C/420 bar with approximately 43 and 40% yield, respectively [22]. The oleic acid (65.38–66.24%) is predominant in the bacaba-de-leque oil composition, independent of the extraction conditions. The fatty acid composition profile of the bacaba-de-leque oil was used to predict the solubility of the oil in supercritical CO₂, and to estimate the TAGs composition using an Excel application developed by our group, which was validated when compared with TAGs composition published in the literature.

From the engineering point of view the prediction of TAGs composition is an important parameter to calculate its physical properties and then represent the oil in process simulation, considering the challenge to identify all the possible TAGs in a vegetable oil, besides the innumerable analysis methods [24]. The prediction of the solubility of the natural extracts in the supercritical solvent, in the absence of experimental measurements under the operating conditions of interest, is an important parameter for the design and optimization of the supercritical extraction process, which can be predicted for a wide range of temperature and pressure employing equation of state [23,25,26].

To the best of our knowledge, in addition to the lack of information on the changes in fatty acid and TAGs composition with the environmental and geographical condition of açai oil (Euterpe oleracea Mart.), there is no information about the solubility of açai oil in carbon dioxide. Therefore, in this work, the lyophilized açai pulp (LAP) oil from three municipalities in the northern region of Pará-Brazil, obtained by CO₂ supercritical extraction (CO₂-SE) were studied in terms of global yield isotherms and fatty acid compositions. The TAGs composition of the

LAP oil samples were predicted based on the fatty acid composition profile. The lyophilized açai pulp before and after the extraction with supercritical CO₂ were evaluated for total phenolic compounds (TPC), anthocyanins, and antioxidant capacity. In addition, the Peng Robinson EOS was applied to predict the açai oil solubility in supercritical CO₂.

2. Materials and methods

2.1. Chemicals

Carbon dioxide (99.90%) pure was supplied by White Martins Ltda. (Belém, Pará, Brazil). The reagents gallic acid, folin-Ciocalteu, trolox, DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), ABTS [2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline) 6-sulfonic acid], were purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) and ethanol (99.5%) was purchased from Dinâmica Ltda. (São Paulo, Brazil).

2.2. Açai (Euterpe oleracea) samples

Açai fruits were collected from Anajás (0° 59'13" South latitude and 49° 56' 24" West longitude), Chaves (0° 9' 37" South latitude and 49° 59' 18" West longitude), and Saracá island, located in Limoeiro do Ajuru (01° 53' 39" South latitude and 49° 22' 57" West longitude) municipalities in the state of Pará-Brazil, in July 2017. In this study the Euterpe oleracea fruits from different localities were identified according to the municipalities names.

2.3. Lyophilized açai pulp (LAP) samples

The fruits of açai, 4 kg of each locality, were selected, washed and immersed in drinking water at 60 °C for 15 min, to facilitate the pulp separation. The mechanical pulping was performed using drinking water in 2:1 (fruit:water, w/v) proportion in a stainless steel vertical machine (METVISA@ DG.10, Belém, Brazil). The açai pulp samples were stored in plastic bags and frozen at -18 °C for one week. The frozen pulp was dehydrated by lyophilization for 72 h in the lyophilizer (Liotop, L101, São Paulo, Brazil), then vacuum packed and kept under refrigeration at 5 °C for four months. The particle size was analyzed using Tyler sieves (WS Tyler, USA) -8 + 28 mesh and the mean particle diameter was determined according to ASAE method [27]. The sample real density was determined using a Helium Pycnometer (Quanta-chrome, Ultracyc 1200e, EUA). These analyses were done in triplicate. Equation 1 shows the apparent density. The bed porosity was determined by the relation between the apparent and real densities, according to Equation 2.

$$\rho_a = \frac{m}{V} \quad (1)$$

Where: ρ_a is the apparent density, m is the sample mass and V is the sample volume

$$\varepsilon = 1 - \frac{\rho_a}{\rho_r} \quad (2)$$

Where: ε is the bed porosity and ρ_r is the true density of the sample

2.4. Extraction procedures: CO₂ - SE

The assays were carried out in a Spe-ed™ SFE (Allentown, PA, EUA model: 7071 of Applied Separations), equipped with a 0.05 L vessel, with the following dimensions: internal height of 0.3231 m and internal diameter of 0.0142 m. The global yield isotherms were performed under the following experimental conditions: 50 °C/350 bar, 60 °C/420 bar, and 70 °C/490 bar. In these conditions, Batista et al. [22] obtained the best global extraction yields, of which the density of carbon dioxide (CO₂) is near 900 kg/m³. The CO₂ used was 99.9% pure, White Martins, Pará, Brazil), and the extraction was performed in two

stages: static period (period in which the solvent and the solute comes into contact in a closed regime) of 1800s and a dynamic period (period in which the system is opened, keeping the flow constant by releasing the solvent in the gas phase and the precipitated extract was stored in a collection flask) of 10,800 s, using a solvent mass flow rate of 8.85×10^{-5} kg/s and 0.005 kg of dry basis sample. The experiments were performed in duplicate. The global yield was calculated in relation to the extract mass and the solid açai matrix mass on a dry basis (d.b.), according to Eq. (3).

$$X_{ob,s} = \frac{m_{extract}}{m_{sample} \times \left(1 - \frac{U_a}{100}\right)} \times 100 \quad (3)$$

Where: $X_{ob,s}$ is the global yield (%); $m_{extract}$ is the oil mass; m_{sample} is the sample mass and U_a is the moisture of the sample.

2.5. Fatty acids composition of açai oil

The fatty acid compositions of açai oil samples from different municipalities were determined by gas chromatography (GC) using the AOCS Ce 1–62 method [28]. The fatty acid methyl esters were prepared by the AOCS Ce 2–66 method [29]. The analysis was performed on a Shimadzu GC-2010 gas chromatograph equipped with a flame ionization detector (FID) with a capillary column TG-WAX MS (30 m × 0.32 mm × 0.25 μ). The operating conditions were: Column Temperature program: 50 °C (60 s), heating rate of 10 °C/min to 250 °C (480 s); the injector and detector temperature were 250 °C; hydrogen was used as carrier gas with linear velocity of 0.2 m/s. The experiments were performed in duplicate.

2.6. Lipids nutritional quality indexes

A better approach for the lipids nutritional evaluation is the use of indices based on the fatty acid composition and its functional effects. These indexes are the atherogenicity index (AI) – Eq. (4), and the thrombogenicity index (TI) – Eq. (5), as defined by Ulbricht and Southgate [30], as well as the hypocholesterolemic/hypercholesterolemic fatty acid rate (h/H) – Eq. (6), according to Santos-Silva et al. [31].

$$A.I = \frac{C12:0 + 4(C14:0) + C16:0}{\sum MUFA + \sum \omega-6 + \sum \omega-3} \quad (4)$$

$$T.I = \frac{C14:0 + C16:0 + C18:0}{0.5(\sum MUFA) + 0.5(\sum \omega-6) + 3(\sum \omega-3) + (\sum \omega-3/\sum \omega-6)} \quad (5)$$

$$h/H = \frac{C18:1\omega9 + C18:2\omega6 + C20:4\omega6 + C18:3\omega3 + C20:5\omega3}{C14:0 + C16:0} \quad (6)$$

Where: C12:0 (lauric acid); C14:0 (myristic acid); C16:0 (palmitic acid); C18:0 (stearic acid); C18:1 ω-9 (oleic acid); C18:2 ω-6 (linoleic acid); C18:3 ω-3 (linolenic acid); C20:4 ω-6 (arachidonic acid); C20:5 ω-3 EPA (eicosapentaenoic acid); C22:5 DPA (docosapentaenoic acid); C22:6 DHA (docosahexaenoic acid); MUFA (Monounsaturated Fatty Acids).

2.7. Prediction of probable triacylglycerols (TAGs) composition of açai oil

The composition in TAGs of natural oleaginous materials such as vegetable oils is complex. Despite the modern methods of analysis, the identification of all the TAGs composition of oils is still a challenge [24], as there are not enough commercially available standards. In this work the probable TAGs compositions of lyophilized açai pulp oils, of each locality and different operating conditions submitted to CO₂-SE

were predicted based on 1,2,3 random theory [32] which assumes that each fatty acids is randomly distributed to all three positions of the glycerol molecules of a TAG, and could be applied in the case when no isomers is distinguished [33]. In order to carry out these predictions a computational application in Excel/VBA developed by our group was used (see supplementary information). Mathematically the application generate all possible combination with repetition, of three fatty acids (k-elements) in glycerol backbone from a set of a given size n (fatty acid composition) and all possible permutation of each combination (see in Reference [34]). This methodology results in a large number of TAGs, then the results were described by groups of TAGs (NC:NDB) with the same equivalent carbon number (ECN = NC-2.NDB), where NC is the number of carbons, without the three carbon atoms of the glycerol, and NDB is the number of double bonds; groups with less than 1% (w/w) of the total concentration were ignored.

2.8. Prediction of açai oil solubility in supercritical CO₂

Extracts solubility in a supercritical solvent is a better parameter to define the operating condition (P and T) to obtain higher extraction yields. Few data exists in the literature concerning the solubility of vegetable oils in supercritical CO₂ because the experimental measurements are laborious and time-consuming and therefore costly. More difficult are solubility data of TAGs in supercritical CO₂ considering the additional difficulty of obtaining them pure. The EOS prediction approach is an option to evaluate the behavior of solubility of vegetable oil over a wide range of pressure and temperature. In this work the solubility of açai oil in supercritical carbon dioxide was predicted with the Peng-Robinson equation of state using the van der Waals mixing rule with two binary interaction parameters. The açai oil was considered as a multicomponent mixture of fatty acids, according to the methodology described by Cunha et al. [26]. The procedure proposed by Cunha et al. [26] correlated with success the experimental data of gas (solubility)-liquid equilibrium of the palm kernel oil/CO₂ system at pressures between 103.8–345.5 bar and temperatures between 40–70 °C, with the absolute medium deviations between the experimental data and the predicted CO₂ weight fraction of 0.003 for gas (solubility) phase and 0.097 for liquid phase.

The computation of multicomponent mixture solubility in carbon dioxide using an equation of state requires information concerning the thermophysical properties (critical temperature T_c, critical pressure P_c, and the acentric factor ω) of all of the pure components constituting the multicomponent system, the composition and the binary interaction parameters between the pure components and carbon dioxide. In this study, the critical properties (T_c, P_c, and ω) of the açai oil fatty acids composition and the binary interaction parameters were calculated previously and described in details by Araújo and Meireles [35]. The gas phase mass fraction of the gas-liquid equilibrium calculated by the equation of state for the multicomponent system of açai oil/CO₂ was converted into solubility for the various compositions in fatty acids according to the following equation:

$$sol(g_{oil}/g_{CO_2}) = \frac{\sum_i M_i \cdot z_i}{M_{CO_2} \cdot z_{CO_2}} \quad (7)$$

Where: z_i is the component i molar fraction in the gas phase; M_i is the molar mass of each component.

2.9. Total phenolic compounds (TPC) and total anthocyanins in LAP before and after CO₂-SE

The TPC determination for both LAP and pulps after supercritical fluid extractions were quantified according to the spectrophotometric method described by Singleton and Rossi [36]. The quantification was performed in a UV-vis spectrophotometer (Thermo Scientific, Evolution 300, San Jose, EUA) at 760 nm. For quantification (n = 3), gallic

acid was used as standard in different concentrations (20–100 mg/L $r^2 = 0.99$). The total phenolic content was expressed in mg of gallic acid equivalent/100 g of dry material (d.b.). The total anthocyanins quantification was performed according to the pH differential spectro-photometric method described by Giusti and Wrolstad [37]. Absorbance readings were performed in a spectrophotometer (Thermo Scientific, Evolution 300, San Jose, EUA), at 510 and 700 nm wavelength. Calculations were performed according to Eqs. (8) and (9), and the results ($n = 3$) expressed in mg of cyanidin 3-glycoside equivalent/ 100 g (d.b.).

$$Abs = [(Abs_{510nm} - Abs_{700nm})_{pH1.0} - (Abs_{510nm} - Abs_{700nm})_{pH4.5}] \quad (8)$$

$$Total\ anthocyanins\ (mg/L) = \frac{Abs \times 10^3 \times MW \times FD}{(\epsilon \times L)} \quad (9)$$

Where: Abs is the absorbance; MW is the molecular weight relative to 3-glycoside cyanidin (449.2 g/mol); FD is the dilution factor given by the ratio between the volume of dilution (in liters) and the mass of sample (in grams); ϵ is the molar absorption of cyaniding 3-glycoside in buffer solution of pH 1.0 at 510 nm (26,900 L/mol/cm) and L is the optical path.

2.10. Antioxidant capacity in LAP before and after CO₂-SE

TEAC assay (trolox equivalent antioxidant capacity): was determined according to a procedure proposed by Miller et al. [38] with modifications. ABTS^{•+} was obtained from the reaction of 7 mM ABTS aqueous solution with 140 mM potassium persulfate mixed and kept at room temperature for 12–16 h protected from light. The solution was diluted in ethanol (P.A) to the absorbance of 0.70 ± 0.02 at 734 nm. 30 μ L aliquots of each extract were submitted to reaction with 3 mL of the ABTS^{•+} radical. After 6 min reaction the absorbance reading was performed, using Trolox concentrations as reference (0.01 to 0.020 mg/mL). The results ($n = 3$) were expressed in μ M Trolox/g per g on a dry basis (d.b.). DPPH assay: was determined using the method described by Brand-Williams et al. [39] with modifications. An ethanol/water solution (70:30, v/v) containing 0.06 mM DPPH was prepared. After adjusting the blank with the solution, an aliquot of 100 μ L of the extracts obtained by CO₂-SE was added to 3.9 mL of this solution containing 0.06 mM DPPH. The decrease in absorbance at 515 nm was monitored by spectrophotometry at 1 min intervals for the first 10 min and then at 5 min intervals until stabilization (60 min as determined by a preliminary study). An analytical curve was prepared with Trolox (0.01 to 0.20 mg/L) and the results ($n = 3$) were expressed in μ M Trolox/g on a dry basis (d.b.).

2.11. Statistical analysis

All analyzes were performed in triplicate and the results were expressed as the mean of three independent replicates ($n = 3$). In order to verify the existence of a significant difference between the SFE conditions, the means of the results were submitted to analysis of variance and, when significant, compared by the Tukey test at 95% probability, with the aid of the Statistica® program, version 7.1 (Statsoft, Inc. Tulsa, USA).

3. Results and discussions

3.1. Characterization of raw material

The true density mean of the açai samples were 1110 ± 0.01 kg/m³ to Anajás, 1090 ± 0.01 kg/m³ to Chaves, and 1080 ± 0.01 kg/m³ to Saracá. The samples apparent density was 330 kg/m³. The porosity of the bed was 0.7 and the mean particle diameter was 7.6×10^{-4} m.

Table 1
Global yield on dry basis (X₀, d b).

| Locality | T (°C) | P (bar) | Yield (%) |
|----------|--------|---------|----------------------------|
| Anajás | 50 | 350 | 50.35 ± 0.19 ^c |
| | 60 | 420 | 49.28 ± 0.19 ^d |
| | 70 | 490 | 49.84 ± 0.28 ^{cd} |
| Chaves | 50 | 350 | 55.71 ± 0.22 ^b |
| | 60 | 420 | 56.94 ± 0.08 ^a |
| | 70 | 490 | 57.06 ± 0.03 ^a |
| Saracá | 50 | 350 | 55.21 ± 0.07 ^b |
| | 60 | 420 | 55.23 ± 0.14 ^b |
| | 70 | 490 | 55.28 ± 0.21 ^b |

Data represent the mean ± standard deviation. Means followed by the same letter in the column do not differ statistically from each other at the 95% level of significance, by the Tukey test.

3.2. Global yield

Table 1 shows the global yields of CO₂-SE of LAP oil from the three localities Anajás, Chaves and Saracá. The highest yields were obtained of LAP oil from Chaves which ranged from 55.71 ± 0.22 at 50 °C/ 350 bar to 57.06 ± 0.03 at 70 °C/490 bar; the yields from Saracá ranged from 55.21 ± 0.07 at 50 °C/350 bar to 55.28 ± 0.21 at 70 °C/ 490 bar and the lowest yields were obtained of LAP oil from Anajás ranged from 49.28 ± 0.19 at 60 °C/420 to 50.35 ± 0.19 at 50 °C/ 350 bar. The CO₂-SE of LAP oil experiments from commercial açai (Euterpe oleracea) fruits, from unknown geographic region, were realized in the same operating conditions (P, T) applied in this work, but it were obtained lower global yields: 43.72 at 50 °C/350 bar, 40.78 at 60 °C/420 bar and 45.40 at 70 °C/490 bar [22].

The density of CO₂ under these operations conditions has an exactly constant value equal to 899.23 kg/m³, taken from the NIST Chemistry Webbook (NIST Standard Reference Database). Density is the most important thermodynamic property to define the solvating power of a solvent at high pressures, increasing the density of the solvent increases its solvating power. Therefore at constant density little influence of the temperature and pressure on the global yield was expected. There was no significant influence of the temperature and pressure on the global yield of açai oil from Anajás and Saracá localities, as observed by Tukey test, but as shown in Table 1, from Chaves locality the temperature increase results in a little increase in the global yield due to an increase in the vapor pressure of the compounds of the composition of açai oil which change with locality as has been describing in the next item.

3.3. Fatty acids composition of Açai oil

The fatty acid profiles of the LAP oils obtained in this work by CO₂-SE at 50 °C/350 bar, 60 °C/420 bar, and 70 °C/490 bar, from the different localities are presented in Table 2. The highest content of oleic acid was found in LAP oil from Saracá for all operating conditions, with higher value of 64.19% at 60 °C/420 bar; the lowest content was found from Chaves (61.65%) at 50 °C/350. The highest content of linoleic acid was found in LAP oil from Chaves for all operating conditions with higher value of 12.31% at 50 °C/350 bar; the lowest content was found from Saracá (9.45%) at 50 °C/350. The highest content of palmitic acid (21.79%) was found in LAP oil from Saracá at 50 °C/350 and the lowest (21.15%) from Chaves at 70 °C/490 bar, showing that there were no significant difference in palmitic acid content for all localities and operating conditions studied. As shown in Table 2 the effect on fatty acid composition of LAP oil was more accentuated by geographically location than CO₂-SE operating conditions. In our previous work [22] of LAP from açai (Euterpe oleracea) fruits, with unknown geographic region, submitted to CO₂-SE, was found lower content of oleic acid of 52.73% and 62.41% at 50 °C/350 and 70 °C/490 bar, respectively than the contents obtained in this work for all localities and only found

Table 2

Fatty acids composition (wt.%) of lyophilized açai pulp oil obtained by supercritical fluid extraction and oils functional quality indexes.

| Fatty acids | ANAJÁS | | | CHAVES | | | SARACÁ | | |
|------------------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| | 50 °C 350 bar | 60 °C 420 bar | 70 °C 490 bar | 50 °C 350 bar | 60 °C 420 bar | 70 °C 490 bar | 50 °C 350 bar | 60 °C 420 bar | 70 °C 490 bar |
| Lauric (C12:0) | 0.03 | 0.14 | 0.03 | 0.07 | 0.03 | 0.03 | 0.22 | 0.03 | 0.04 |
| Myristic (C14:0) | 0.07 | 0.11 | 0.07 | 0.08 | 0.08 | 0.08 | 0.19 | 0.08 | 0.08 |
| Palmitic (C16:0) | 21.67 | 21.74 | 21.68 | 21.29 | 21.19 | 21.15 | 21.79 | 21.69 | 21.57 |
| Palmitoleic (C16:1) (ω -7) | 3.96 | 3.90 | 3.84 | 3.56 | 3.46 | 3.43 | 3.46 | 3.53 | 3.56 |
| Margaric (C17:0) | 0.15 | 0.07 | 0.15 | 0.12 | 0.14 | 0.14 | 0.07 | 0.07 | 0.14 |
| Oleic (C18:1) (Cis ω -9) | 62.18 | 62.21 | 62.48 | 61.65 | 61.98 | 62.10 | 63.99 | 64.19 | 64.12 |
| Linoleic (C18:2) (Cis ω -6) | 11.07 | 10.87 | 10.84 | 12.31 | 12.17 | 12.19 | 9.45 | 9.55 | 9.51 |
| Linolenic (C18:3) (ω -3) | 0.66 | 0.71 | 0.65 | 0.69 | 0.72 | 0.72 | 0.67 | 0.70 | 0.75 |
| Arachidic (C20:0) | 0.13 | 0.17 | 0.18 | 0.17 | 0.16 | 0.11 | 0.08 | 0.09 | 0.18 |
| Behenic (C22:0) | 0.09 | 0.09 | 0.09 | 0.06 | 0.06 | 0.06 | 0.08 | 0.07 | 0.06 |
| TOTAL | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| SFA | 22.66 | 22.86 | 22.67 | 22.31 | 22.23 | 22.18 | 23.01 | 22.64 | 22.64 |
| UFA | 77.34 | 77.14 | 77.33 | 77.69 | 77.77 | 77.82 | 76.99 | 77.36 | 77.36 |
| MUFA | 66.14 | 66.10 | 66.32 | 65.21 | 65.43 | 65.52 | 67.45 | 67.72 | 67.68 |
| PUFA | 11.20 | 11.04 | 11.01 | 12.48 | 12.34 | 12.30 | 9.54 | 9.64 | 9.68 |
| Indexes | | | | | | | | | |
| P/S | 0.49 | 0.48 | 0.49 | 0.56 | 0.56 | 0.55 | 0.41 | 0.43 | 0.43 |
| MUFA/PUFA | 5.91 | 5.99 | 6.02 | 5.23 | 5.30 | 5.33 | 7.07 | 7.02 | 6.99 |
| A I | 0.28 | 0.29 | 0.28 | 0.28 | 0.28 | 0.27 | 0.29 | 0.28 | 0.28 |
| T I | 0.54 | 0.54 | 0.54 | 0.52 | 0.52 | 0.52 | 0.54 | 0.53 | 0.53 |
| h/H | 3.40 | 3.38 | 3.40 | 3.49 | 3.52 | 3.53 | 3.37 | 3.42 | 3.44 |

SFA (saturated fatty acids); UFA (unsaturated fatty acids); MUFA (monounsaturated fatty acids); PUFA (polyunsaturated fatty acids). The standard deviations for all fatty acids were lower than 1.8%.

P/S (percentage ratio of polyunsaturated/saturated); A I (atherogenicity index); T I (thrombogenicity index); h/H (hypocholesterolemic/hypercholesterolemic).

linoleic acid (15.54%) at 50 °C/350. Its possible observe in Table 2 that the FA yield did not change within the range of SFE conditioned used and similar results were observed by [23,40].

The amount of monounsaturated fatty acids (MUFA) obtained is greater than the polyunsaturated fatty acids (PUFA), for all samples studied (Table 2). The highest MUFA and PUFA fractions were obtained from Saracá (67.72%) and Chaves (12.48%) açai oil samples, respectively. The amount of saturated fatty acids (SFA) is commonly used for the evaluation of the nutritional value of oils based on the PUFA/SFA ratio [14], and as shown in Table 2 the PUFA/SFA ratios of the açai oil for all operation conditions and localities are above 0.4 as recommended. The effect on fatty acid composition of açai oil by geographically location can be observed more clearly through the values of MUFA/PUFA ratios (Table 2). The highest average ratio (7.07) was obtained of açai oil from Saracá, and the lowest (5.23) from Chaves.

The fatty acid compositions of açai oil obtained in this work confirm the similarity with the levels found in olive oil as described in the literature, which suffer too the influence of environment and geographical location [17,41]. Ollivier et al. [17] studied olive oil from different localities in France with the following average values of the means of the different localities: MUFA 76.35% varying from 70.51 to 81.80%, PUFA 8.91% varying from 6.44 to 12.50%; the PUFA/SFA ratio of 0.6 varying from 0.50 to 0.73 and MUFA/PUFA ratio of 8.57 varying from 5.64 to 12.70%. El-Gharbi et al. [41] evaluated the influence of geographical location on olive oil from Tunisia with the following means of the different localities of MUFA 71.16% varying from 66.12 to 75.11%, PUFA 15.61% varying from 12.80 to 2.10% and the PUFA/SFA ratio of 1.19 varying from 1.02 to 1.46 and MUFA/PUFA ratio of 4.77 varying from 3.29 to 5.87%

3.4. Functional quality

Table 2 shows the functional quality indexes, calculated from the açai oil percentages of the saturated, polyunsaturated and MUFA of the three localities. The percentage ratio of polyunsaturated/saturated fatty acids showed values lower than 0.6%, which is considered to be of great relevance to vegetable oils because of its potential and lipid

functionality, showing its effects on various health-beneficial processes as the prevention and treatment of diseases such as arthritis and other inflammatory or autoimmune disorders [42]. The results of the at AI and TI were lower than 0.6%, and could influence in a positive way the prevention of risks of cardiovascular problems. In contrast, the results of the h/H ratio should be evaluated inversely to the AI and TI indexes, since their high values are directly linked to the direct effect on stimulating or preventing atherosclerosis and coronary thrombosis due to their effect on blood cholesterol and low density lipoprotein (LDL) [43].

3.5. Probable TAGs composition of açai oil

In this work the probable TAGs compositions of açai oil were predicted for each extraction condition and locality based on the fatty acid compositions presented in Table 2. The predictions were carried out using a computational application in Excel/VBA developed by our group presented in the supplementary information. The TAGs composition profiles of açai oil are described in Table 3 by groups of TAGs with the same equivalent carbon number (ECN) and groups with less than 1% (w/w) of the total concentration were ignored. The main TAGs predicted, representing more than 85% of the total composition, are OOO, POO, OLiO, PLiO and POP with contents varying from 25.26 to 27.97%, 26.16 to 28.44%, 12.34 to 15.15%, 8.37 to 10.45% and 8.95 to 9.68%, respectively. The lower contents (above 1%) were obtained to PoOO, PPOO, OLiLi, PLiP and PoLiO. Due the lack of information of TAGs composition and the similarity of the fatty acid composition of açai oil with the levels found in olive and bacaba oils, it was verified that most TAGs presented in Table 3 are the same found by chromatography analysis of these oils. The TAGs OLiLi (0.75%), OLiO (7.79%),

OOO (51.7%), POO (20.8%), and PoOO (1.15%) were found in samples of olive oil from Spain [16]; the TAGs PLiP (0.8%), PLiO (7.74%), OOO (35.81%), POP (3.56%) and POO (21.72%) were found in samples of olive oil from France [17]; and the TAGs PLiO (4.31%), OOO (50.52%), POO (20.20%), PoLiO (2.09%), PPOO (4.31%) were found in samples of olive oil from Portugal [44]. The TAGs OLiLi (2.8%), PLiP (1.3%), OLiO (13.6%), PLiO (7.1%), OOO (37%), POP (5.5%) and POO (24.5%) were found by Antoniosi Filho et al. [45] in sample of bacaba oil.

Table 3

Probable triacylglycerols compositions (wt. %) of açai oil (*Euterpe oleracea*) extracted with supercritical CO₂.

| NC-2NDB | Group | Main TG | ANAJÁS | | | CHAVES | | | SARACÁ | | |
|---------|-------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| | | | 50 °C | 60 °C | 70 °C | 50 °C | 60 °C | 70 °C | 50 °C | 60 °C | 70 °C |
| | | | 350 bar | 420 bar | 490 bar | 350 bar | 420 bar | 490 bar | 350 bar | 420 bar | 490 bar |
| 44 | 52:4 | PoLiO | 1.74 | 1.69 | 1.66 | 1.75 | 1.69 | 1.67 | 1.34 | 1.37 | 1.38 |
| | 54:5 | OLiLi | 2.43 | 2.36 | 2.34 | 3.02 | 2.97 | 2.97 | 1.82 | 1.85 | 1.85 |
| 46 | 50:2 | PLiP | 1.66 | 1.65 | 1.63 | 1.80 | 1.77 | 1.76 | 1.43 | 1.42 | 1.41 |
| | | PPoO | 3.41 | 3.38 | 3.32 | 3.02 | 2.94 | 2.90 | 3.08 | 3.11 | 3.13 |
| | 52:3 | PoOO | 4.89 | 4.83 | 4.78 | 4.38 | 4.29 | 4.26 | 4.52 | 4.60 | 4.66 |
| | | PLiO | 9.52 | 9.42 | 9.37 | 10.45 | 10.33 | 10.32 | 8.40 | 8.42 | 8.37 |
| | 54:4 | OLiO | 13.65 | 13.48 | 13.50 | 15.13 | 15.10 | 15.15 | 12.34 | 12.45 | 12.44 |
| | 48 | 48:0 | PPP | 1.08 | 1.10 | 1.08 | – | – | – | 1.10 | 1.08 |
| | 50:1 | POP | 9.32 | 9.42 | 9.37 | 9.03 | 8.99 | 8.95 | 9.68 | 9.55 | 9.49 |
| | 52:2 | POO | 26.73 | 26.96 | 27.01 | 26.16 | 26.30 | 26.29 | 28.44 | 28.27 | 28.23 |
| | 54:3 | OOO | 25.57 | 25.71 | 25.95 | 25.26 | 25.63 | 25.73 | 27.84 | 27.89 | 27.97 |

3.6. Predicted solubility of açai oil in supercritical CO₂

The Peng Robinson equation of state was selected to predict the solubility of the multicomponent system açai oil/CO₂ based on the fatty acid compositions from Chaves locality (Table 2). The predicted solubility values at the same operating conditions of global yields experiments were: 0.082 g oil/g CO₂ at 50 °C/350 bar, 0.093 g oil/g CO₂ at 60 °C/420 bar, and 0.108 g oil/g CO₂ at 70 °C/490 bar. These predictions corroborates with the behavior of the global yields that increased as pressure and temperature increases.

Fig. 1 shows the solubility isotherms (50, 60 and 70 °C) predicted for a pressure range from 200 to 550 bar. Considering that the density of the solvent define its solvating power, where the density increases at constant temperature with increasing of the pressure and at constant pressure the density increases with the decreasing of temperature, Fig. 1 shows that an isothermal increase in the pressure increased the solubility due to an increase in the solvent density and, therefore, the solvation power, but in the range of 300 bar, the isothermal crossing point occurred, described in the literature by the crossover phenomena, where different behavior of solubility at isobaric conditions were observed. Below the isothermal crossing point the density effect is pre-dominant, solubility increases due the density increasing at constant temperature with increasing of the pressure and due the decreasing temperature at constant pressure, but above the crossing point solubility increases with increasing temperature due to the vapor pressure effect of the compounds of the composition of açai oil. Experiments of the solubility isotherms described in the literature of some vegetable oil in supercritical CO₂ presented similar values to pressure of isothermal crossing point predicted in this work for the açai oil: 300 bar for

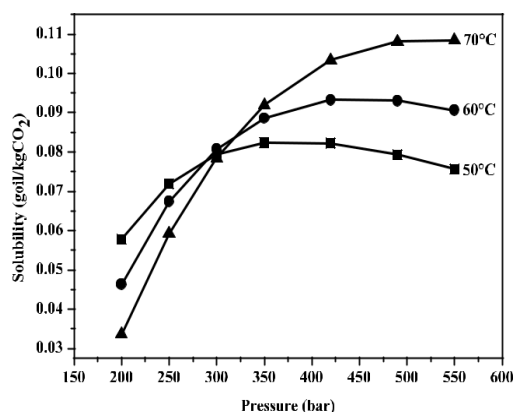


Fig. 1. Açai oil solubility in supercritical carbon dioxide predicted by the Peng-Robinson equation.

soybean oil King and Bott [46], between 280 to 340 bar for pistachio nut oil Palazoglu and Balaban [47] and 350 bar for peanut oil [48].

3.7. TPC and anthocyanins concentrations in açai pulp before and after CO₂-SE

The TPC contents in the LAP presented significant differences among the studied localities (Anajás, Chaves, and Saracá), with mean variations from 736.65 to 1542.82 mg EAG/100 g (d.b.). However, after CO₂-SE the highest concentrations were obtained at 60 °C/420 bar condition (Fig. 2A). The total anthocyanins contents also showed significant variations, with mean values ranging from 514.21 to 1151.37 mg Cya 3-glu/100 g (d.b.), with emphasis on the Chaves locality with the highest levels in relation to the other localities (Fig. 2B). Despite the large variation observed, the contents of TPC were similar to those reported by Batista et al. [22] for LAP and after CO₂-SE at 60 °C/420 bar. On the other hand, the anthocyanins concentrations obtained in this study were close to those of *Euterpe precatoria* Mart. (868.91 mg/100 g (d.b.)) cultivated in the Manaquiri region of the Amazonas State, Brazil of Yuyama et al. [18] and similar to that found in the blueberry (*Vaccinium myrtillus* L.) extract (1071 mg/100 g), obtained with 90% supercritical CO₂, 5% H₂O, and 5% ethanol [49]. It can be observed in Figs. 2A and 2B that the TPC and total anthocyanins concentrations in the açai fruits pulp after CO₂-SE showed a tendency to concentrate the bioactive compounds. With significant variations between the conditions applied in the process and the localities of fruit collection, there is a great influence of the process parameters such as: temperature, pressure, and their respective CO₂ density in compounds concentrations with antioxidant potential.

3.8. In vitro antioxidant capacity of açai pulp before and after CO₂-SE

The antioxidant capacity of LAP of açai fruits after extraction with CO₂-SE, for Chaves, Saracá, and Anajás localities, exhibited high antioxidant capacity for both applied methods (TEAC and DPPH assay). However, this action is differentiated between the localities and the analyzed conditions (Table 4). Among the evaluated conditions, the LAP extracts after extraction at 60 °C/420 bar and 70 °C/490 bar showed high antioxidant capacity, as well as the highest concentrations in TPC and total anthocyanins, respectively (Figs. 2A and 2B). This relationship is justified by the premise that the phenolic compounds and the anthocyanin pigments present an ideal structure for the deactivation of free radicals, having a direct relation with the antioxidant capacity in vitro, contributing in different ways to the antioxidant capacity of vegetable extracts [50]. On the other hand, significant variations ($p < 0.05$) in bioactive compounds were observed among the studied localities, reflecting on the variation of the antioxidant potential of fruit extracts from each locality evaluated in this work. With

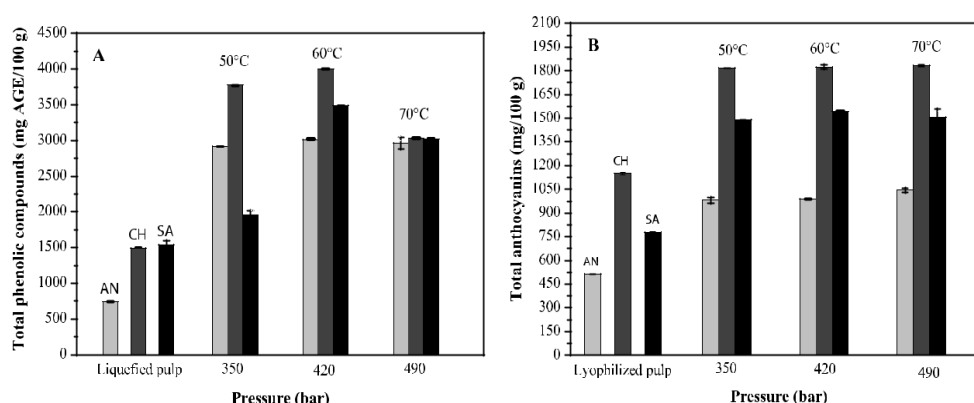


Fig. 2. Total phenolic content of lyophilized açai pulp (A) and total anthocyanin content in lyophilized açai pulp (B) before and after supercritical CO₂ extraction in (■) AN-Anajás, (●) CH-Chaves, and (▲) SA-Saracá localities.

mean variations between 39.54 μM Trolox/g (d.b.) and 140.70 μM Trolox/g (d.b.) by the TEAC method. In addition, the mean values for the DPPH assay varied between 707.56 μM Trolox/g (d.b.) and 1533.45 μM Trolox/g (d.b.). However, in 60 °C/420 bar condition, the pulp after CO₂-SE from Chaves locality showed a higher antioxidant capacity for DPPH radical sequestration, significantly higher than the values obtained for Saracá and Anajás under the same extraction conditions. The blueberry extracts (*Vaccinium myrtillus* L.) after the CO₂-SE with cosolvent presented mean variation of 199 μM Trolox/g (d.b.) TEAC and 1658 μM Trolox/g DPPH (d.b.) [49], close to those obtained in this work for açai pulp extract after CO₂-SE. In general, for both methods used, the antioxidant capacity presented high values for the conditions with high concentrations of TPC and total anthocyanins. In addition, the large variation in TPC and total anthocyanins content variation support the evidence that the açai fruits composition can be influenced by the locality factor, reflecting in the fruits chemical composition variation, as well as in the concentration of bioactive compounds. This fact has also been observed for other fruits in the Amazon region [51].

4. Conclusion

The lyophilized açai pulp (LAP) oil from three municipalities in the northern region of Pará-Brazil, obtained by CO₂ supercritical extraction (CO₂-SE), under the following experimental conditions: 50 °C/350 bar, 60 °C/420 bar, and 70 °C/490 bar were studied to evaluate the effects of temperature, pressure, and geographically localization on the global yield and fatty acid composition. The fatty acid compositions of açai oil obtained in this work confirm the similarity with the levels found in olive oil as described in the literature, which suffer too the influence of environment and geographical location. The effect on fatty acid composition of LAP oil was more accentuated by geographically location than CO₂-SE operating conditions. The probable TAGs compositions of

açai oil, predicted based on the fatty acid composition profile, presented most of TAGs with the same levels found by chromatography analysis of olive and bacaba oils. The main TAGs predicted, representing more than 85% of the total composition, are OOO, POO, OLiO, PLiO and POP. The highest yields were obtained of LAP oil from Chaves which ranged from 55.71 \pm 0.22 at 50 °C/350 bar. The Peng Robinson equation of state was selected to predict the solubility of the multicomponent system açai oil/CO₂ based on the fatty acid compositions from Chaves locality. The solubility values of açai oil at the same operating conditions of global yield experiments showed the same behavior of the global yields that increases as pressure and temperature increases. The rates of atherogenicity and thrombogenicity, as well as the h/H relationship, suggest that açai oil can positively influence the prevention of risks of cardiovascular problems. For the total phenolic compounds, total anthocyanins, and antioxidant capacity obtained before and after the CO₂-SE, the best results were achieved under the extraction conditions of 60 °C/420 bar and 70 °C/490 bar for the Chaves locality, which contributes to the açai oil, along with anthocyanins, an antioxidant and protective effect against many diseases, especially diseases such as cancer.

Conflict of interest

All authors of manuscript "Supercritical CO₂ extraction of lyophilized Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp oil from three municipalities in the state of Pará, Brazil" declare that he has no conflict of interest.

Acknowledgements

Marcilene Paiva da Silva thanks the Coordination of Improvement of Higher Education Personnel - CAPES, for the doctorate scholarship (project number: 1636612).

Table 4
Antioxidant capacity of the *Euterpe oleracea* Mart extracts obtained from pulps after CO₂-SE.

| | TEAC (μM Trolox/g) | | | DPPH (μM Trolox/g) | | |
|------------------|--------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| | Anajás | Chaves | Saracá | Anajás | Chaves | Saracá |
| Lyophilized pulp | 39.54 \pm 0.85 ^b | 57.95 \pm 0.89 ^a | 41.61 \pm 0.69 ^b | 707.56 \pm 19.12 ^c | 936.82 \pm 3.02 ^a | 804.00 \pm 14.96 ^b |
| T °C/P(bar) | | | CO ₂ -SE | | | |
| 50/350 | 54.04 \pm 1.60 ^c | 136.27 \pm 1.68 ^a | 59.07 \pm 1.14 ^b | 978.63 \pm 29.25 ^b | 1341.79 \pm 27.53 ^a | 1080.68 \pm 42.11 ^b |
| 60/420 | 65.96 \pm 1.66 ^c | 139.31 \pm 2.02 ^a | 73.56 \pm 1.37 ^b | 1076.49 \pm 32.18 ^b | 1533.45 \pm 71.15 ^a | 1141.21 \pm 48.92 ^b |
| 70/490 | 65.85 \pm 1.06 ^c | 140.70 \pm 2.57 ^a | 75.06 \pm 0.89 ^b | 974.10 \pm 18.07 ^b | 1063.67 \pm 67.36 ^a | 1061.35 \pm 28.69 ^a |

Data represent the mean \pm standard deviation (dry basis). Means followed by the same letter in the line do not differ statistically from each other with 95% significance, by the Tukey test.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary material related to this article can be found, in the online version, at doi:<https://doi.org/10.1016/j.jcou.2019.03.019>.

References

- [1] A.G. Schauss, Advances in the study of the health benefits and mechanisms of action of the pulp and seed of the Amazonian palm fruit, *Euterpe oleracea* Mart., known as “Açaí”, in: R.R. Watson, V.R. Preedy (Eds.), *Fruits, Vegetables, and Herbs*, Academic Press, Oxford, 2016, pp. 177–220, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802972-5.00010-X>.
- [2] K.K.D.L. Yamaguchi, L.F.R. Pereira, C.V. Lamarão, E.S. Lima, V.F. da Veiga-Junior, Amazon acai: chemistry and biological activities: a review, *Food Chem.* 179 (2015) 137–151, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.01.055>.
- [3] J. Kang, C. Xie, Z. Li, S. Nagarajan, A.G. Schauss, T. Wu, X. Wu, Flavonoids from acai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp and their antioxidant and anti-inflammatory activities, *Food Chem.* 128 (2011) 152–157, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.03.011>.
- [4] P.O. Barbosa, D. Pala, C.T. Silva, M.O. de Souza, J.F. do Amaral, R.A.L. Vieira, G.A. de F. Folly, A.C.P. Volp, R.N. de Freitas, Açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp dietary intake improves cellular antioxidant enzymes and biomarkers of serum in healthy women, *Nutrition* 32 (2016) 674–680, <https://doi.org/10.1016/j.nut.2015.12.030>.
- [5] L.A. Pacheco-palencia, P. Hawken, S.T. Talcott, Juice matrix composition and as-corbic acid fortification effects on the phytochemical, antioxidant and pigment stability of açaí (*Euterpe oleracea* Mart.), *Food Chem.* 105 (2007) 28–35, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.03.027>.
- [6] A.G. Schauss, X. Wu, R.L. Prior, B. Ou, D. Patel, D. Huang, J.P. Kababick, Phytochemical and Nutrient Composition of the Freeze-Dried Amazonian Palm Berry, *Euterpe oleracea* Mart. (Açaí), *J. Agric. Food Chem.* 54 (2006) 8598–8603, <https://doi.org/10.1021/jf060976g>.
- [7] P.S. Melo, L. de, O.R. Arrivetti, S.M. de Alencar, L.H. Skibsted, Antioxidative and prooxidative effects in food lipids and synergism with α -tocopherol of açaí seed extracts and grape rachis extracts, *Food Chem.* 213 (2016) 440–449, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.06.101>.
- [8] J.F. Reis, V.V.S. Monteiro, R. Souza Gomes, M.M. Carmo, G.V. Costa, P.C. Ribera, M.C. Monteiro, Action mechanism and cardiovascular effect of anthocyanins: a systematic review of animal and human studies, *J. Transl. Med.* 14 (2016) 1–16, <https://doi.org/10.1186/s12967-016-1076-5>.
- [9] M.J. Kruger, N. Davies, K.H. Myburgh, S. Lecour, Proanthocyanidins, anthocyanins and cardiovascular diseases, *Food Res. Int.* 59 (2014) 41–52, <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.01.046>.
- [10] R.J.S. do Nascimento, S. Couri, R. Antoniassi, S.P. Freitas, Composição em ácidos graxos do óleo da polpa de açaí extraído com enzimas e com hexano, *Rev. Bras. Frutic.* 30 (2008) 498–502, <https://doi.org/10.1590/S0100-29452008000200040>.
- [11] M. do, S.M. Rufino, J. Pérez-Jiménez, S. Arranz, R.E. Alves, E.S. de Brito, M.S.P. Oliveira, F. Saura-Calixto, Açaí (*Euterpe oleracea*) ‘BRS Pará’: a tropical fruit source of antioxidant dietary fiber and high antioxidant capacity oil, *Food Res. Int.* 44 (2011) 2100–2106, <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.09.011>.
- [12] A.G. Schauss, X. Wu, R.L. Prior, B. Ou, D. Huang, J. Owens, A. Agarwal, G.S. Jensen, A.N. Hart, E. Shanbrom, Antioxidant Capacity and Other Bioactivities of the Freeze-Dried Amazonian Palm Berry, *Euterpe oleracea* Mart. (Açaí), *J. Agric. Food Chem.* 54 (2006) 8604–8610, <https://doi.org/10.1021/jf0609779>.
- [13] A.T. Erkkila, N.R. Matthan, D.M. Herrington, A.H. Lichtenstein, Higher plasma docosahexaenoic acid is associated with reduced progression of coronary atherosclerosis in women with CAD, *J. Lipid Res.* 47 (12) (2006) 2814–2819, <https://doi.org/10.1194/jlr.P600005-JLR200>.
- [14] V.R. Preedy, R.R. Watson, *Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention*, 1st edition, Kindle Edition, 2010, pp. 582–880 ISBN: 978-0-12-374420-3.
- [15] R. Watson, V. Preedy, *Bioactive Nutraceuticals and Dietary Supplements in Neurological and Brain Disease: Prevention and Therapy*, 1st edition, (2015), pp. 297–302 ISBN: 978-0-12-411462-3.
- [16] F. Aranda, S. Gómez-Alonso, R.M. Rivera Del Álamo, M.D. Salvador, G. Fregapane, Triglyceride, total and 2-position fatty acid composition of Cornicabra virgin olive oil: comparison with other Spanish cultivars, *Food Chem.* 86 (2004) 485–492, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.09.021>.
- [17] D. Ollivier, J. Artaud, C. Pinatel, J.-P. Durbec, M. Guérière, Differentiation of French virgin olive oil RDOs by sensory characteristics, fatty acid and triacylglycerol compositions and chemometrics, *Food Chem.* 97 (2006) 382–393, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.04.024>.
- [18] L.K.O. Yuyama, J.P.L. Aguiar, D.F. Silva Filho, K. Yuyama, M. de Jesus Varejão, D.I.T. Fávoro, M.B.A. Vasconcellos, S.A. Pimentel, M.S.F. Caruso, Caracterização físico-química do suco de açaí de *Euterpe precatoria* Mart. oriundo de diferentes ecossistemas amazônicos, *Acta Amazon.* 41 (2011) 545–552, <https://doi.org/10.1590/S0044-59672011000400011>.
- [19] J. Azmir, I.S.M. Zaidul, M.M. Rahman, K.M. Sharif, A. Mohamed, F. Sahena, M.H.A. Jahurul, K. Ghafoor, N.A.N. Norulaini, A.K.M. Omar, Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: a review, *J. Food Eng.* 117 (2013) 426–436, <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014>.
- [20] M. Laque de Castro, L. García-Ayuso, Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future, *Anal. Chim. Acta* 369 (1998) 1–10, [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(98\)00233-5](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(98)00233-5).
- [21] E.M. da, S. Menezes, A.T. Torres, A.U. Sabaa Srur, Valor nutricional da polpa de açaí (*Euterpe oleracea* Mart) liofilizada, *Acta Amazon.* 38 (2008) 311–316, <https://doi.org/10.1590/S0044-59672008000200014>.
- [22] C. de Cássia Rodrigues Batista, M.S. de Oliveira, M.E. Araújo, A.M.C. Rodrigues, J.R.S. Botelho, A.P. da Silva Souza Filho, N.T. Machado, R.N. Carvalho Jr., 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, *J. Supercrit. Fluids* 107 (2016) 364–369, <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2015.10.006>.
- [23] V.M.B. Cunha, M.P. Silva, S.H.B. Sousa, P.N. Bezerra, E.G.O. Menezes, N.J.N. Silva, D.A.D.S. Banna, M.E. Araújo, R.N. Carvalho Jr., Bacaba-de-leque (*Oenocarpus distichus* Mart.) oil extraction using supercritical CO₂ and bioactive compounds determination in the residual pulp, *J. Supercrit. Fluids* 144 (2019) 81–90, <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2018.10.010>.
- [24] S. Indelicato, D. Bongiorno, R. Pitozco, V. Di Stefano, V. Calabrese, S. Indelicato, G. Avellone, Triacylglycerols in edible oils: determination, characterization, quantification, chemometric approach and evaluation of adulterations, *J. Chromatogr. A* 1515 (2017) 1–16, <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2017.08.002>.
- [25] H. Sovova, R.P. Stateva, Supercritical fluid extraction from vegetable materials, *Int. Rev. Chem. Eng.* 27 (2011) 79–156, <https://doi.org/10.1515/REVCE.2011.002>.
- [26] V.M.B. Cunha, M.P. Silva, M.A.A.M. Raul, N. Carvalho Jr, N.T. Machado, M.E. Araújo, Lauric acid rich oil supercritical extraction and methodology to predict solubility, *Food Public Health* 6 (2016) 26–32, <https://doi.org/10.5923/j.fph.20160601.04>.
- [27] ASAE, *Method of determining and expressing fineness of feed materials by sieving*, American Society of Agricultural Engineers (1998).
- [28] A.O.C.S. Official Method Ce 1-62: Fatty Acid Composition by Gas Chromatography American Oil Chemists’ Society, 4th ed., Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists’ Society, Champaign, USA, 1995.
- [29] A.O.C.S. Official Method Ce 2-66: Preparation of Methyl Esters of Long Chain Fatty Acids American Oil Chemists’ Society, 4th ed., Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists’ Society, Champaign, USA, 1995.
- [30] T.L.V. Ulbricht, D.A.T. Southgate, Coronary heart disease: seven dietary factors, *Lancet* 338 (1991) 985–992, [https://doi.org/10.1016/0140-6736\(91\)91846-M](https://doi.org/10.1016/0140-6736(91)91846-M).
- [31] J. Santos-Silva, R.J. Bessa, F. Santos-Silva, Effect of genotype, feeding system and slaughter weight on the quality of light lambs, *Livest. Prod. Sci.* 77 (2002) 187–194, [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(02\)00059-3](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(02)00059-3).
- [32] F.A. Norris, K.F. Mattil, A new approach to the glyceride structure of natural fats, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 24 (1947) 274–275, <https://doi.org/10.1007/BF02643335>.
- [33] C. Litchfield, *Analysis of triglycerides*, New York and London. Librar Y of Congress Catalog Card Number: 72-77334. Printed in the United States of America, 1st edition, Academic Press, 1972, pp. 8–249 ISBN: 9780323153522.
- [34] M.P. Silva, V.M.B. Cunha, S.H.B. Sousa, E.G.O. Menezes, P.N. Bezerra, J.T. Farias Neto, G.N.R. Filho, M.E. Araújo, R.N. Carvalho Jr., Procedure to calculate the probable TAGs composition of vegetable oil, *The Journal of CO₂ Utilization, Data in Brief and the text “submitted”* (2019).
- [35] M.E. Araújo, M.A.A. Meireles, Improving phase equilibrium calculation with the Peng-Robinson EOS for fats and oils related compounds/supercritical CO₂ systems, *Fluid Phase Equilib.* 169 (2000) 49–64, [https://doi.org/10.1016/S0378-3812\(00\)00307-1](https://doi.org/10.1016/S0378-3812(00)00307-1).
- [36] V.L. Singleton, J.A. Rossi, Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents, *Am. J. Enol. Vitic.* 16 (1965) 144 LP-158 <http://www.ajevonline.org/content/16/3/144.abstract>.
- [37] M.M. Giusti, R.E. Wrolstad, Characterization and measurement of anthocyanins by UV-Visible spectroscopy, *Curr. Protocols Food Anal. Chem.* 00 (2001), <https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0102500.F1.2.1-F1.2.13>.
- [38] N.J. Miller, C. Rice-Evans, M.J. Davies, V. Gopinathan, A. Milner, A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the anti-oxidant status in premature neonates, *Clin. Sci.* 84 (1993) 407–412, <https://doi.org/10.1042/cs0840407>.
- [39] W. Brand-Williams, M.E. Cuvelier, C. Berset, Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity, *Lwt - Food Sci. Technol.* 28 (1995) 25–30, [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5).
- [40] R.H.H. Pinto, C. Sena, O.V. Santos, W.A. Costa, A.M.C. Rodrigues, R.N. Carvalho Jr., Extraction of bacaba (*Oenocarpus bacaba*) oil with supercritical CO₂: global yield isotherms, fatty acid composition, functional quality, oxidative stability, spectroscopic profile and antioxidant activity, *Grasas Y Aceites* 69 (2) (2018) 1–8, <https://doi.org/10.3989/gya.0883171>.
- [41] S. El-Gharbi, M. Tekaya, A. Bendini, E. Valli, R. Palagano, M. Hammami, T.G. Toschi, B. Mechri, Effects of geographical location on chemical properties of zarazi virgin olive oil produced in the south of Tunisia, *Am. J. Food Sci. Technol.* 6 (6) (2018) 228–236, <https://doi.org/10.12691/ajfst-6-6-1>.
- [42] B. Gray, F. Steyn, P.S.W. Davies, L. Viletta, Omega-3 fatty acids: a review of the effects on adiponectin and leptin and potential implications for obesity management, *Eur. J. Clin. Nutr.* 67 (2013) 1234–1242, <https://doi.org/10.1038/ejcn.2013.197>.
- [43] Y.A. Attia, M.A. Al-Harhi, M.A. Korish, M.M. Shiboob, Fatty acid and cholesterol profiles, hypocholesterolemic, atherogenic, and thrombogenic indices of broiler meat in the retail market, *Lipids Health Dis.* 16 (2017) 40, <https://doi.org/10.1186/s12944-017-0423-8>.
- [44] J.S. Amaral, I. Mafrá, M.B.P.P. Oliveira, Characterization of three portuguese varietal olive oils based on fatty acids, triacylglycerols, phytosterols and vitamin E profiles: application of chemometrics, *Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention* (2010) 581–589, <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-374420-3.00063-2>.
- [45] N.R.A. Filho, O.L. Mendes, F.M. Lanças, Computer prediction of triacylglycerol composition of vegetable oils by HRGC, *Chromatographia*. 40 (1995) 557–562.

- <https://doi.org/10.1007/BF02290268>.
- [46] M.B. King, T.R. Bott, Compressed and liquefied gases as solvents: the commercial applications, in: M.B. King, T.R. Bott (Eds.), *Extraction of Natural Products Using Near-Critical Solvents*, Blackie Academic & Professional, Glasgow, 1995, pp. 19–23.
- [47] T.K. Palazoglu, M.O. Balaban, Supercritical CO₂ extractions of lipids from roasted pistachio nuts, *Transactions of the ASAE, American Society of Agricultural Engineers* 41 (3) (1998) 679–684.
- [48] J.W. Goodrum, M.B. Kilgo, Peanut oil extraction with SCCO₂: Solubility and kinetic functions, *Transactions of the ASAE, American Society of Agricultural Engineers* 30 (6) (1987) 1865–1868, <https://doi.org/10.13031/2013.30651>.
- [49] J. Paes, R. Dotta, G.F. Barbero, J. Martínez, Extraction of phenolic compounds and anthocyanins from blueberry (*Vaccinium myrtillus* L.) residues using supercritical CO₂ and pressurized liquids, *J. Supercrit. Fluids* 95 (2014) 8–16, <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2014.07.025>.
- [50] M. Karabin, T. Hudcova, L. Jelinek, P. Dostalek, Biotransformations and biological activities of hop flavonoids, *Biotechnol. Adv.* 33 (2015) 1063–1090, <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.02.009>.
- [51] S.H. Brabo de Sousa, R. de Andrade Mattietto, R. Campos Chisté, A.V. Carvalho, Phenolic compounds are highly correlated to the antioxidant capacity of genotypes of *Oenocarpus distichus* Mart. *Fruits, Food Res. Int.* 108 (2018) 405–412, <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.03.056>.

Avaliação da estrutura morfológica, química elementar, parâmetros de cor e composição em minerais da polpa de açaí (*euterpe oleraceamart.*) De três diferentes localidades da região Amazônica

Evaluation of morphological structure, elemental chemistry, color parameters and mineral composition of açaí pulp (*euterpe oleraceamart.*) From three different locations in the Amazon region

DOI:10.34117/bjdv6n4-157

Recebimento dos originais: 13/03/2020

Aceitação para publicação: 09/04/2020

Marcilene Paiva da Silva

Aluna de doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal do Pará

Instituição: Universidade Federal do Pará

Endereço: Rua Augusto Correa Nº 1, bairro do Guamá. CEP: 66050-970- Belém- PA, Brasil

E-mail:arci_paiva@hotmail.com

Sérgio Henrique Brabo de Sousa

Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal do Pará

Instituição: Universidade Federal do Pará

Endereço: Rua Augusto Correa Nº 1, bairro do Guamá. CEP: 66050-970- Belém- PA, Brasil

E-mail:Sousa.s.h.b@gmail.com

Vânia Maria Borges Cunha

Aluna de doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal do Pará

Instituição: Universidade Federal do Pará

Endereço: Rua Augusto Correa Nº 1, bairro do Guamá. CEP: 66050-970- Belém- PA, Brasil

E-mail:vaniacunha21@hotmail.com

Marielba de los Angeles Rodriguez Salazar

Aluna de doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal do

Pará Instituição: Universidade Federal do Pará

Endereço: Rua Augusto Correa Nº 1, bairro do Guamá. CEP: 66050-970- Belém- PA, Brasil E-

mail:marielba434@hotmail.com

Cristine Bastos do Amarante

Doutora n em Químicapela Universidade Federal do Pará

Instituição:Campus de Pesquisa Museu Paraense Emílio Goeldi

Endereço: Av. Perimetral, 1901, bairro da Terra Firme, CEP: 66077-830 – Belém – PA – Brasil

E-mail: cbamarante@museu-goeldi.br

Marilena Emmi Araujo

Doutora em Engenharia de Alimentos pela Universidade Estadual de Campinas-UNICAMP

Instituição: Universidade Federal do Pará

Endereço: Rua Augusto Correa Nº 1, bairro do Guamá. CEP: 66050-970- Belém- PA, Brasil

E-mail:meaaraujo@gmail.com

Raul Nunes de Carvalho Junior

Doutor em Engenharia de Alimentos pela Universidade Estadual de Campinas-UNICAMP

Instituição: Universidade Federal do Pará
Endereço: Rua Augusto Correa Nº 1, bairro do Guamá. CEP: 66050-970- Belém- PA, Brasil
E-mail: raulncj@ufpa.br

RESUMO

Os frutos do açazeiro (*Euterpe oleracea* Mart.) procedentes de três diferentes municípios da região amazônica foram processados para a obtenção da polpa. Este trabalho objetivou analisar alguns constituintes da polpa do fruto de açai após liofilização. As imagens obtidas por MEV mostraram a forma e o tamanho das partículas da polpa, revelando irregularidades em sua estrutura apresentando rugosidade e porosidade. Os pontos, destacados pela Espectroscopia de Energia Dispersiva de raios-X (EDS), foram a presença dos elementos oxigênio, potássio e cálcio. O elemento químico que apresentou um maior percentual de concentração para todas as localidades foi o oxigênio (O). Em relação aos parâmetros de cor, a coordenada a* apresentou valores positivos, indicando que as amostras tendem ao roxo, o ângulo de tonalidade °Hue, mostrou uma certa tendência a faixa de cor entre o vermelho e roxo. Os resultados do perfil de minerais mostram que os minerais Ca e o Mg da polpa das três regiões estudadas foram os minerais encontrados em abundância, com concentrações que variaram de 4951,55 µg/g a 5540,41 µg/g.

Palavras-chave: Caracterização, Microscopia eletrônica, Espectroscopia, Composição.

ABSTRACT

The fruits of the açazeiro (*Euterpe oleracea* Mart.) From three different municipalities in the Amazon region were processed to obtain the pulp. This work aimed to analyze some constituents of the pulp of the açai fruit after freeze drying. The images obtained by SEM showed the shape and size of the pulp particles, revealing irregularities in their structure, presenting roughness and porosity. The points, highlighted by X-ray Dispersive Energy Spectroscopy (EDS), were the presence of the elements oxygen, potassium and calcium. The chemical element that showed a higher percentage of concentration for all locations was oxygen (O). Regarding the color parameters, the a* coordinate showed positive values, indicating that the samples tend to purple, the tint angle ° Hue, showed a certain tendency to the color range between red and purple. The results of the mineral profile show that the minerals Ca and Mg from the pulp of the three studied regions were the minerals found in abundance, with concentrations ranging from 4951.55 µg / g to 5540.41 µg / g. 4.

Keywords: Characterization, Electron microscopy, Spectroscopy, Composition.

1. INTRODUÇÃO

O açai (*Euterpe oleracea* Mart.) é um fruto típico e popular com potencial nutricional e econômico da região amazônica, que nos últimos anos ganhou um grande destaque devido aos benefícios à saúde, associados a sua composição química (Portinho et al., 2012). A *Euterpe oleracea* Mart. é encontrada, sobretudo, em terrenos de várzea e igapó e o período de frutificação pode ocorrer durante todo o ano, mas é no período da safra de verão (estação mais seca) é que apresenta frutos com maturação uniforme e de melhor paladar, quando se obtém um suco de qualidade (Fregonesi et al., 2010; Yuyama et al. 2011).

Cada palmeira atinge mais de 25 metros de comprimento, com troncos de 9 a 16 centímetros de diâmetro, os frutos apresentam caroços de forma arredondada (diâmetro de cerca de 12 mm). As sementes representam cerca de 85% do volume do fruto, e são cobertas com uma camada fina de polpa

de cor violeta comestível (Wycoff et al 2015). Estudos iniciais das sementes relataram que eles continham fibras de celulose e hemicelulose, proteínas, minerais, lipídios e um número limitado de polifenóis (Rodriguez et al., 2006). O epicarpo é uma camada fina e o mesocarpo é de 1-2 mm de espessura (Pompeu et al., 2009; Gordon et al., 2012).

A polpa desse fruto tem sido objeto de alguns estudos em função de seu valor essencialmente energético, com elevada concentração de fibra alimentar, nutritivo, assim como a polpa liofilizada (Rogez, 2000; Menezes et al. 2008). Porém, ainda há muito que se investigar e avaliar em relação a polpa liofilizada do açaí em relação a sua estrutura, os componentes químicos e elementos minerais, de forma a contribuir tanto na área da pesquisa quanto para o mercado consumidor. Existe apenas um número limitado de estudos que avaliaram a características físico-químicas e retenção de biocompostos após a secagem da polpa de açaí. Além disso, existem outros métodos de secagem que possuem suas particularidades, e por isso a comunidade científica vem desenvolvendo estudos de comparação em relação à retenção desses biocompostos e manutenção das características físicas da polpa de açaí (Lucas et al., 2018).

Quanto a coloração dos frutos a sua pigmentação está diretamente relacionada as antocianinas. Esses pigmentos são comuns na natureza, apresentam alta estabilidade sob condições ácidas, atuam como agentes antioxidantes, bactericidas, antiviral, antialérgica, antitrombótico, anti-inflamatório, anticarcinogênico, hepatoprotetor, vasodilatador, antiproliferativa e cardioprotetora (Galvano et al. 2005; Portinho et al., 2012; [Alessandra-Perini](#) et al., 2018).

De maneira complementar, realizou-se um estudo prático a respeito da polpa de açaí através da análise de sua estrutura microscópica. Esse estudo direcionou-se para esse âmbito prático, devido à importância de avaliar a estrutura da parte comestível dos frutos. Logo, o presente estudo teve como objetivo avaliar a estrutura morfológica e química elementar, além dos parâmetros de cor e a composição em minerais da polpa liofilizada de açaí de três diferentes municípios da região amazônica.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. AQUISIÇÃO E PREPARO DA MATÉRIA-PRIMA

Os frutos de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) foram coletados em três diferentes regiões, envolvendo os municípios de Anajás, Chaves e Saracá, localizados em terras de várzea no estado do Pará. Após a coleta, os frutos foram lavados em água corrente e submetidos a água a 60 ° C durante 15 minutos para suavizar a casca dura do fruto e facilitar no processo de depuração (maneira artesanal tradicional de obter o suco). O despulpamento foi realizado em uma despulpadora mecânica de aço inoxidável, popularmente conhecida como “batedeira”, adicionando uma solução aquosa de hipoclorito de sódio a 200 mg/L sobre os frutos, na proporção 2:1 (2kg de frutos para 1 litro da solução aquosa). O suco concentrado foi armazenado em sacos plásticos e congelado a temperatura de -18 °C. Após o

processo de congelamento, o suco foi desidratado por liofilização durante 72 h no liofilizador (LIOTOP, modelo: L101) em uma temperatura de -19°C e pressão de $2,72 \times 10^{-4}$ bar. A polpa liofilizada foi armazenada em embalagens a vácuo sob refrigeração em temperatura de 5°C até o período das análises.

2.2. MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV) E ESPECTROSCOPIA DE ENERGIA DISPERSIVA (EDS)

Para se analisar as estruturas morfológicas e as microanálises elementares da polpa liofilizada de açai, foram utilizadas as técnicas de MEV e de EDS. As capturas das imagens das partículas, foram realizadas no Laboratório de Microscopia (LMEV/ITEC-UFPA), pela medida visual por Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) (Hitachi, modelo TM 3000, Japão).

2.3. PARÂMETROS DE COR

A caracterização da cor da polpa de açai das localidades Anajás, Chaves e Saracá foram determinadas utilizando um colorímetro Color Quest XE (Hunter Lab série CQX3470, VA, EUA), equipado com fonte de luz D65, ângulo de observação a 10° obtendo os valores de L^* , a^* , b^* . As medidas foram realizadas com três repetições utilizando o sistema CIELAB (L^* , a^* , b^*) definidos pela *Commission Internationale D'eclairage* (CIE) relato por Minolta (1998). Os resultados expressam a variação de cor (ΔE), seu valor em Cromo e ângulo de tonalidade *hue* calculadas segundo as equações 1, 2 e 3. O equipamento foi calibrado nos seguintes parâmetros $L^*=97,51$; $a^*=+0,34$; $b^*=+1,73$, (dados definidos pelo fabricante).

$$\Delta E = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2} \quad (1)$$

$$\text{Croma} = [(a^*)^2 + (b^*)^2]^{1/2} \quad (2)$$

$$h^{\circ} = \text{arctang}(b^*/a^*) \quad (3)$$

2.4. COMPOSIÇÃO MINERAL DA POLPA DE AÇAÍ (*EUTERPE OLERACEA* MART)

A metodologia utilizada foi a descrita por Miyazawa et al. (2009) onde utilizou-se a digestão úmida com $\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4$ (3:1) em um tubo digestor. Para o procedimento foi utilizado 0,5g do material liofilizado, transferido para um tubo digestor, adicionados 8 mL de um solução $\text{HNO}_3:\text{HClO}_4$ (3:1), cuja esta solução ficou descansando em ambiente refrigerado durante a noite. Posteriormente, elevou-se a temperatura do tubo digestor para 120°C até o total desprendimento do vapor castanho e depois a 200°C até o total desprendimento do vapor branco. Após a digestão, a solução do tubo foi filtrada e aferida até a marca em balão volumétrico de 50 mL com água deionizada. As amostras foram digeridas em triplicata (1, 2 e 3) e o branco analítico foi preparado pelo mesmo método sem adição da

amostra. A composição mineral foi determinada a partir desta solução no Laboratório de Análises Químicas do Museu Paraense Emílio Goeldi utilizando-se um espectrômetro de absorção atômica de chama da marca Thermo, modelo ICE3000.

2.5. TRATAMENTO ESTATÍSTICOS DOS RESULTADOS

As determinações foram realizadas em triplicata e os resultados foram expressos como a média de três repetições independentes (n=3). Para verificar a existência de diferenças, as médias dos resultados foram submetidas à análise de variância e, quando significativas, comparadas pelo teste de Tukey a 95% de probabilidade, com auxílio do programa Statistica® versão 7.0 (Statsoft, Inc. Tulsa, EUA).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As análises para se caracterizar as superfícies morfológicas e as microanálises elementares da polpa liofilizada de açaí foram realizadas em tempo suficiente e necessário para serem obtidos depósitos de espessuras estimadas da ordem de 2 μm . As Figuras 1A/1B, 2A/2B e 3A/3B mostram a superfície da estrutura e o espectro de EDS correspondente da polpa de açaí, para tempos de deposição de 60 minutos e para o espectro de 5 minutos. A Tabela 1, apresenta os teores percentuais doselementos químicos determinado pelo espectro em espessuras estimadas da ordem de 80 μm da amostra do MEV.

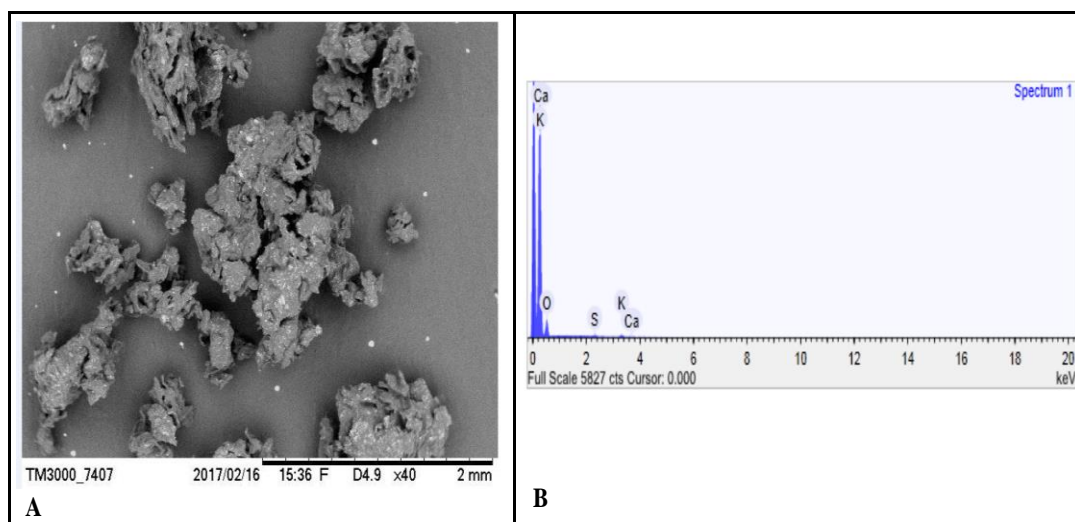


Figura 1- Estrutura da superfície da polpa de açaí da localidade Anajás.

A – MEV da superfície, com aumento de 40 x; B – espectro de EDS para a área analisada.

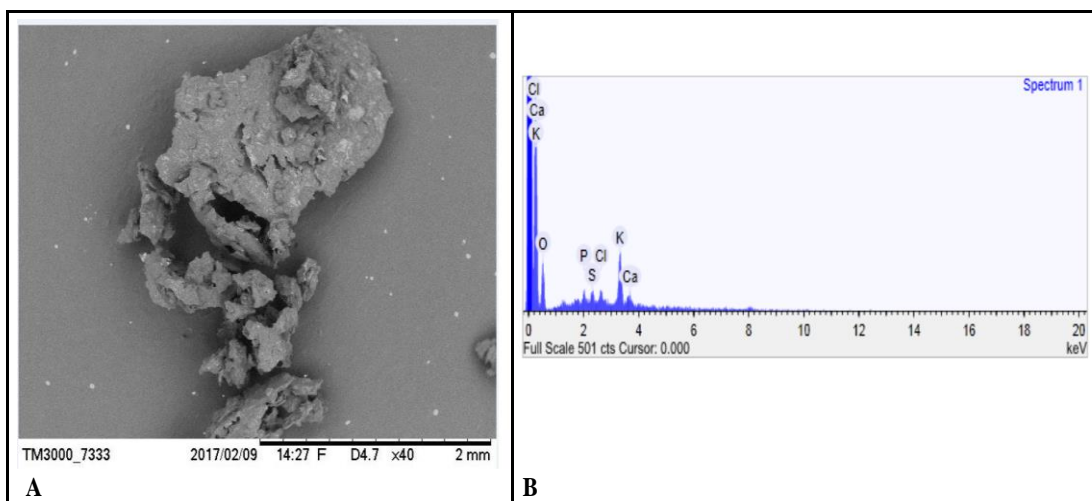


Figura 2- Estrutura da superfície da polpa de açá da localidade Chaves.

A – MEV da superfície, com aumento de 40 x.

B – espectro de EDS para a área analisada.

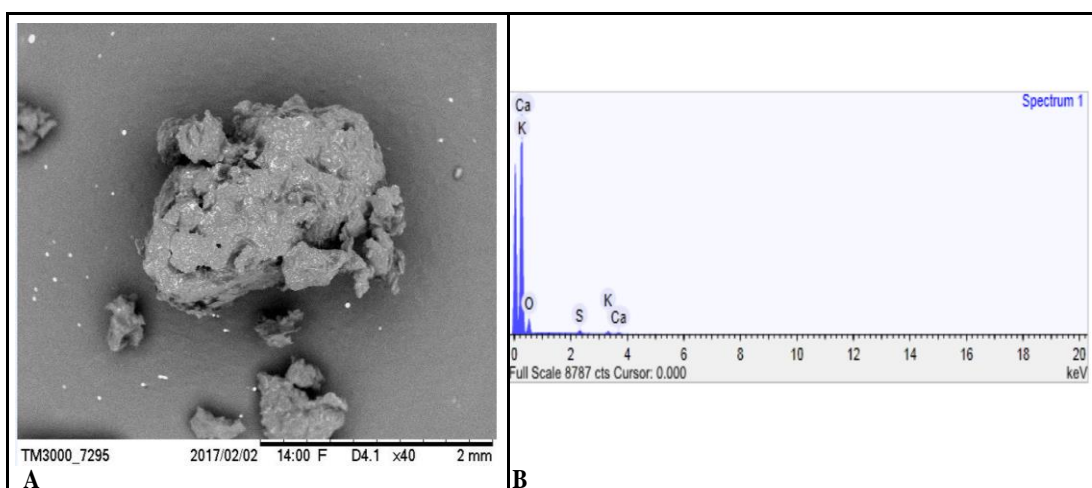


Figura 3- Estrutura da superfície da polpa de açá da localidade Saracá.

A – MEV da superfície, com aumento de 40 x.

B – espectro de EDS para a área analisada.

Tabela 1- Porcentagem dos elementos presentes nos depósitos obtidos da polpa liofilizada de açaí de cada localidade.

| Elementos | Anajás | Chaves | Saracá |
|-----------|--------|--------|--------|
| % O | 90,398 | 72,930 | 85,943 |
| % S | 3,783 | 2,903 | 5,523 |
| % K | 4,397 | 15,715 | 5,593 |
| % Ca | 1,422 | 2,443 | 2,941 |
| % Cl | - | 3,060 | - |
| % P | - | 2,949 | - |

Nas Figuras 1A a 3A, estão apresentadas as imagens obtidas por MEV exibindo a forma e o aspecto das partículas da polpa de açaí. Observa-se que as partículas apresentaram formas e tamanhos variados, mostrando irregularidades em sua estrutura e é possível concluir que a fibra do açaí apresenta rugosidades (porosidades) e pontos luminosos que pode ser pela presença de materiais lipídicos para todas as localidades. Os pontos, destacados nas Figuras 1B a 3B, foram analisados quanto à composição química através da Espectroscopia de Energia Dispersiva de raios-X, o qual demonstra que há presença destacada de oxigênio, potássio e cálcio.

Pode-se observar na Tabela 1, o elemento químico que apresentou um maior percentual para todas as localidades foi o oxigênio (O) e houve uma diferença no teor de potássio (K) para a localidade de Chaves em relação aos municípios de Anajás e Saracá, onde a polpa de açaí do município de Chaves também apresentou mais dois elementos químicos o cloro (Cl) e o fósforo (P). A presença do oxigênio era prevista, pois é um elemento presente em fibras de matérias vegetais as quais são formadas por componentes estruturais e componentes não-estruturais, tais como água e minerais.

Na Tabela 2, são apresentados os valores médios dos parâmetros colorimétricos da polpa de açaí liofilizada. As polpas das três localidades de coleta dos frutos apresentaram valores baixos para a coordenada L*, indicando que as amostras apresentaram tendência à coloração roxa, tendendo ao preto. Não havendo variações significativas entre as localidades.

Tabela 2- Parâmetros colorimétricos da polpa de açaí.

| Localidade | L* | a* | b* | Croma | ΔE | Ângulo Hue |
|--------------------------|-------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| Anajás / polpa liofiliza | 12,56 ± 0,2 | 1,47 ± 0,1 | 2,92 ± 0,0 | 3,22 ± 0,0 | 12,9 | 0,03 |
| Chaves / polpa liofiliza | 12,87 ± 0,3 | 5,66 ± 0,0 | 2,70 ± 0,0 | 3,77 ± 0,0 | 15,0 | 0,04 |
| Saracá / polpa liofiliza | 12,14 ± 0,3 | 4,23 ± 0,2 | 3,16 ± 0,0 | 5,27 ± 0,0 | 12,3 | 0,01 |

Dados expressos a média ± desvio-padrão. Médias seguidas da mesma letra, nas colunas, não diferem pelo teste de a 95% de probabilidade.

Em relação ao parâmetro a^* , os valores foram positivos, indicando que as amostras tendem ao vermelho, com destaque a polpa dos frutos da localidade Chaves, pois apresentou valores superiores em comparação as localidades Anajás e Saracá. Além disso, os valores encontrados na polpa dos frutos da localidade Chaves, foram pelo menos duas vezes superiores ao encontrado na polpa de açaí por Cipriano (2011) de 2,63. Para a coordenada b^* , a amostra mais próxima ao roxo foi Chaves, com valor médio igual a $2,70 \pm 0,08$.

Quanto aos valores observados para o parâmetro croma, que define intensidade e pureza da cor como um todo, as polpas liofilizadas de açaí das localidades Anajás e Chaves são semelhantes entre si. Todavia, a polpa da localidade Saracá se diferencia das demais localidades, com valor superior em relação as demais localidades estudadas. Nesse sentido, os valores apresentaram cor saturada e pura em relação ao branco, com intensidade e tonalidade para o vermelho. O parâmetro $^{\circ}\text{Hue}$ que representa a tonalidade da cor, foram todos positivos, entretanto, estão próximos ao zero, representando a faixa de cor entre o vermelho e roxo, porém próximo a cor rosa.

Quanto as características colorimétricas, a cor dos alimentos é um atributo de qualidade, não só servindo de base para a identificação e aceitação de parâmetros de qualidade pós processamento, mais possivelmente operando como indicador da concentração de pigmentos presentes na polpa dos frutos de açaí pós processamento liofilizada.

Em relação aos minerais, obtiveram-se os seguintes resultados apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 - Composição mineralógica das polpas liofilizadas de açaí dos três municípios:

| Minerais | Média ($\mu\text{g/g}$) | | |
|-----------|---------------------------|----------------------------|------------------------|
| | Anajás | Chaves | Saracá |
| <i>Ca</i> | $4951,55 \pm 563,16^{ab}$ | $5233,20 \pm 1246,42^{ab}$ | $5540,41 \pm 994,45^a$ |
| <i>Mg</i> | $1018,02 \pm 204,26^a$ | $1191,93 \pm 64,89^a$ | $1116,18 \pm 8,16^a$ |
| <i>Mn</i> | $0,61 \pm 0,08^b$ | $0,45 \pm 0,01^c$ | $0,90 \pm 0,04^a$ |
| <i>Zn</i> | $16,97 \pm 3,00^b$ | $17,09 \pm 0,49^b$ | $24,06 \pm 4,25^a$ |
| <i>Fe</i> | $59,86 \pm 7,85^b$ | $45,85 \pm 1,82^c$ | $137,79 \pm 22,58^a$ |
| <i>Cu</i> | $25,56 \pm 1,33^b$ | $26,01 \pm 0,29^b$ | $29,69 \pm 2,55^a$ |

Dados expressos a média \pm desvio-padrão. Médias seguidas da mesma letra, nas linhas, não diferem pelo teste de a 95% de probabilidade.

Com os resultados do perfil de minerais pode ser observado que os elementos Ca e Mg na polpa liofilizada do açaí das três regiões estudadas foram os mais abundantes, com concentrações que variaram

de 4951,55 µg/g a 5540,41 µg/g. A concentração de Fe na polpa de açaí, apresentou um valor maior para localidade de Saracá em relação as outras duas localidades. Segundo Yuyama et al. (2011), relatam que apesar da concentração de Fe no suco de açaí seja baixa, os atributos inerentes ao fruto como fonte de energia e o colocam como destaque por estar ajudando os grupos populacionais da Amazônia.

4. CONCLUSÕES

A polpa liofilizada do açaí de três diferentes localidades reúne características em sua estrutura, de formas irregulares completamente porosas indicando um vegetal fibroso, tal como a presença do elemento químico oxigênio em abundância na sua composição. Quanto as características colorimétricas, a cor do açaí é um atributo de qualidade, não só servindo de base para a identificação e aceitação de parâmetros de qualidade pós processamento, mais possivelmente atuando como indicador da concentração de pigmentos a exemplo das antocianinas. Os resultados obtidos de minerais indicam que as polpas dos frutos de açaí podem ser consideradas como uma boa fonte de Ca e Mg.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Coordenação de Melhoria do Ensino Superior Pessoal – CAPES. Agradecemos também à Universidade Federal do Pará e ao departamento de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, pela disponibilidade dos materiais e equipamentos utilizados para realizar a pesquisa.

REFERÊNCIAS

- Alessandra-Perini, J.; Rodrigues-Baptista, K.C.; Machado, D.E.; Nasciutti, J.A.; Perini, L.E. (2018). Anticancer potential, molecular mechanisms and toxicity of Euterpe oleracea extract (acai): A systematic review. [Review]. PLoS One, v.13 (7), p. 16.
- Cipriano, P. de A. (2011) – Antocianinas de açaí (Euterpe oleracea Mart.) e casca de jaboticaba (Myrciaria jaboticaba) na formulação de bebidas isotônicas (Dissertação de mestrado). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa,
- Fregonesi, B. M.; Yokosawa, C. E.; Okada, I. A.; Massafra, G.; Braga Costa, T. M.; Prado, S. P. T. (2010). Polpa de açaí congelada: características nutricionais, físico-químicas, microscópicas e avaliação da rotulagem. RevInst Adolfo Lutz.; v. 69(3), p. 387-395.
- Galvano, F.; Fauci, L.; Lazzarino, G.; Fogliano, V.; Ritieni, A.; Ciappellano, S.; Battistini, N.C.; Tavazzi, B.; Galvano, G. (2004). Cyanidins: metabolism and biological properties. Journal of Nutritional

Biochemistry, v.15, p.2-11.

Gordon, A.; Cruz, A. P. G.; Cabral, L. M. C.; De Freitas, S. C.; Taxi, C.; Donangelo, C. M. (2012). Chemical characterization and evaluation of antioxidant properties of Acai fruits (*Euterpe oleracea* Mart.) during ripening. Food Chemistry, v.133 (2), p. 256 – 263.

Lucas, B. F.; Zambiasi, R. C.; Costa, J. A. V. (2018). Biocompounds and physical properties of açai pulp dried by different methods. LWT - Food Science and Technology, v. 98, p. 335-340.

Menezes, E. M. S.; Torres, A. T.; Srur, A. U. S. (2008). Valor nutricional da polpa de açai (*Euterpe oleracea* Mart.) liofilizada. Acta Amazônica, v. 38(2), p. 211-316.

Minolta (1998). Precise color communication: Color control of from perception to instrumentation. Japan: Minolta Co. LTDA.

Pompeu, D. R.; Silva, E. M.; Rogez, H. (2009). Optimisation of the solvent extraction of phenolic antioxidants from fruits of *Euterpe oleracea* using Response Surface Methodology. Bioresource Technology; v.100, p. 6076–6082.

Portinho, J. A.; Zimmermann, L. M.; Bruck, M. R. Efeitos Benéficos do Açai. International Journal of Nutrology, v.5, n.1, p. 15-20.

Rodriguez, R. B.; Lichtenthaler, R.; Zimmermann, B. F.; Papagiannopoulos, M.; Fabricius, H.; Marx, F.; Maia, J. G.; Almeida, O. (2006). Total oxidant scavenging capacity of *Euterpe oleracea* Mart. (acai) seeds and identification of their polyphenolic compounds. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 54, p. 4162–4167.

Miyazawa, M.; Pavan, M. A.; Muraoka, T.; Carmo, C. A. F. S. Do, Melo, W. J. de (2009). Análise química de tecido vegetal. In: Silva, F. F. C. da (Ed.). Manual de análises químicas de solos plantas e fertilizantes (2. ed.). Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, Rio de Janeiro: Embrapa Solos.

Rogez, H. 2000. Açai: Preparo, Composição e Melhoramento da Conservação. Ed. Universidade Federal do Pará – EDUPA, Belém, Pará. 360pp.

Wycoff, W.; Luo, R.; Schauss, A. G.; Kababick, J. N.; Sabaa-Srur, A. U. O.; Maia, J. G. S.; Tran, K.; Richards, K. M.; Smith, R. E. (2015). Chemical and nutritional analysis of seeds from purple and white açai (*Euterpe oleracea* Mart.). Journal of Food Composition and Analysis, v. 41, p. 181–187.

Yuyama, L. K. O.; Aguiar, J. P. L.; Filho, D. F. S.; Yuyama, K.; Varejão, M. J.; Fávoro, D. I. T.;

Vasconcelos, M. B. A.; Pimentel, S. A.; Caruso, M. S. F. (2011). Caracterização físico-químico do suco de açaí de *Euterpe oleracea* Mart. oriundo de diferentes ecossistemas amazônicos. *Acta Amazonica*, v. 41, p. 545-552.

ANEXO

Procedimento para calcular a provável composição de TGs de óleo vegetal

O objetivo deste anêxo é apresentar o desenvolvimento de uma aplicação computacional em Excel/VBA para gerar todas as combinações/permutações possíveis de três ácidos graxos (elementos k) na estrutura do glicerol, a partir de um conjunto de n ácidos graxos que podem ser expressos como uma provável composição de triglicerídeos (TGs) de óleo vegetal (Figura A.1). A abordagem é baseada na teoria 1,2,3 aleatória de possíveis TGs que podem ser formados com três ácidos graxos quando nenhum isômero é distinguido, expressa pela seguinte Equação (LITCHFIELD, 1972):

$$\text{Números de TGs} = \frac{n^3 + 3n^2 + 2n}{6} \quad (\text{A.1})$$

Do ponto de vista matemático, a Equação A.1 representa uma combinação de k -elementos com repetição, a partir de um conjunto de determinado tamanho n (BERMAN & FRYER, 1972; KRISHNAN, 2006):

$$C_{n,k} = \binom{n+k-1}{k} = \frac{(n+k-1)!}{k!(n-1)!} \quad (\text{A.2})$$

Considerando uma combinação de três elementos ($k = 3$) de um conjunto com tamanho $n = 5$ {A, B, C, D, E}, foram obtidas 35 combinações com repetições, sendo cinco delas com o mesmo k -elemento (AAA, BBB, CCC, DDD, EEE) como mostrado na Equação A.2.

Em uma segunda etapa, cada combinação de um conjunto com k elementos com repetições, exceto as combinações com o mesmo k -elemento, é ordenada por $k!$ permutações (ERICKSON, 2006). Se $k = 3$, foram obtidas cinco permutações diferentes para cada combinação. A Figura A.3 mostra o diagrama do código VBA desenvolvido para calcular todas as permutações.

Depois de calculadas todas as combinações e permutações de três ácidos graxos {X, Y, Z} na estrutura do glicerol, a partir de uma composição de n ácidos graxos, as composições dos TAGs foram calculadas pelas seguintes Equações (LITCHFIELD, 1972):

$$\%XXX = \frac{XXX}{10000} \quad (A.3)$$

$$\%XXY = 3 \cdot \frac{XXY}{10000} \quad (A.4)$$

$$\%XYZ = 6 \cdot \frac{XYZ}{10000} \quad (A.5)$$

Finalmente, conforme mostrado na Figura A.1, o aplicativo Excel calcula o número de carbono equivalente (ECN), que descreve a ordem de eluição de cada TG quando uma análise de HPLC é realizada, definida pela razão dos números de carbono (NC), sem os três átomos de carbono do glicerol e o número de ligações duplas (NDB) de cada TG, de acordo com a seguinte equação (AITZETMULLER, 1982):

$$ECN = NC - 2NDB \quad (A.6)$$

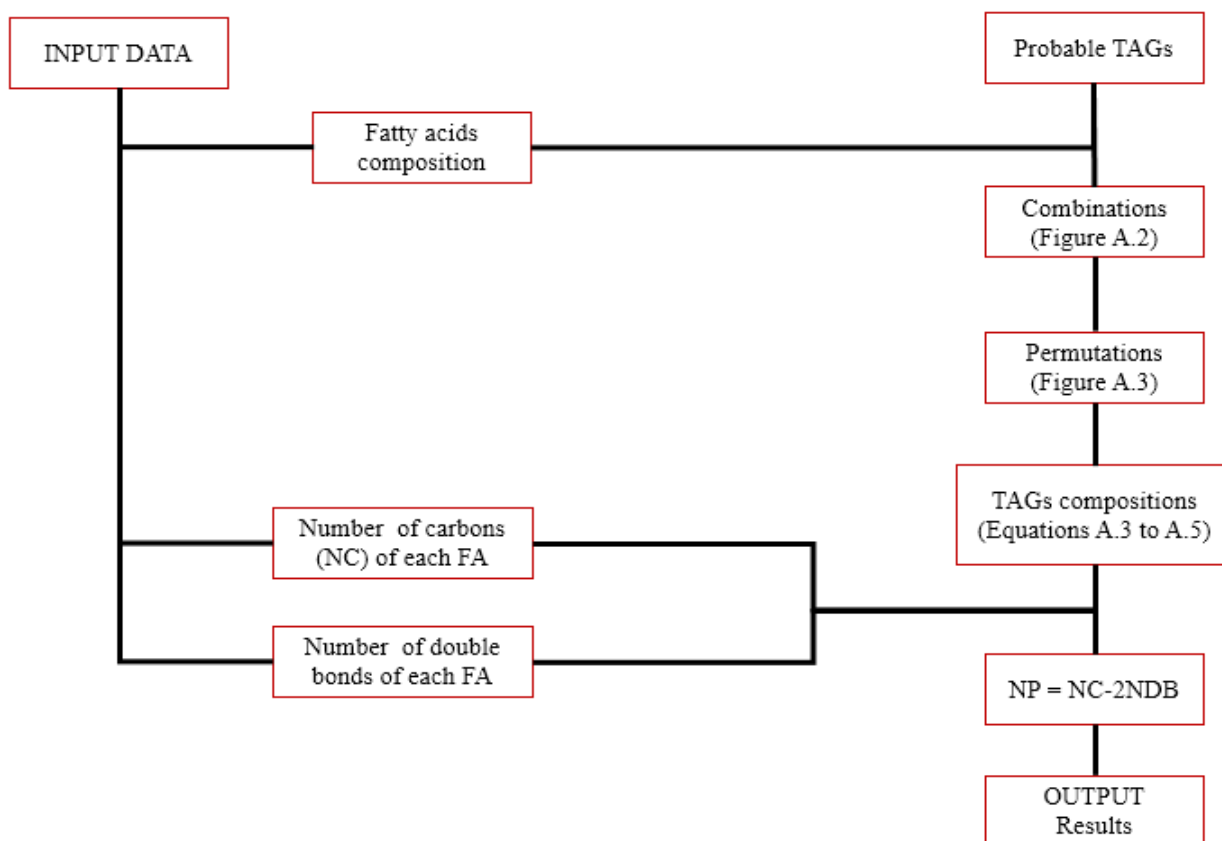


Figura A.1 - Diagrama do aplicativo Excel para cálculo da provável composição dos TGs do óleo vegetal.

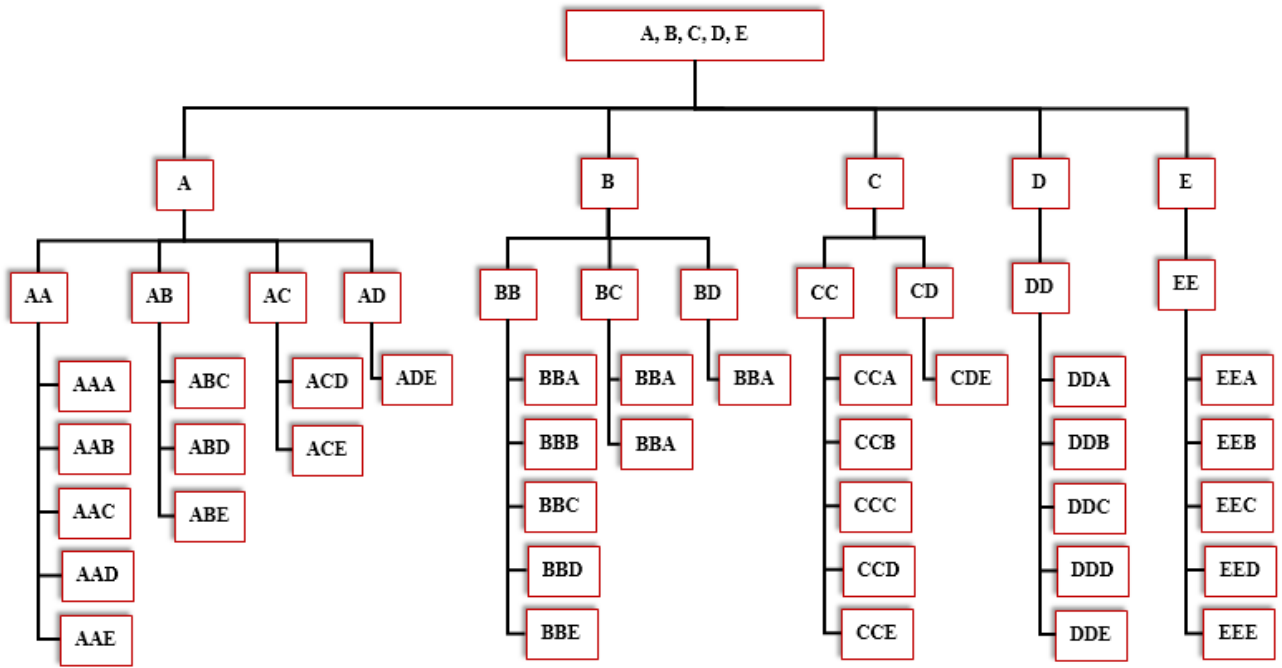


Figura A.2 - Diagrama de combinações com repetições dos três elementos de um conjunto de cinco elementos.

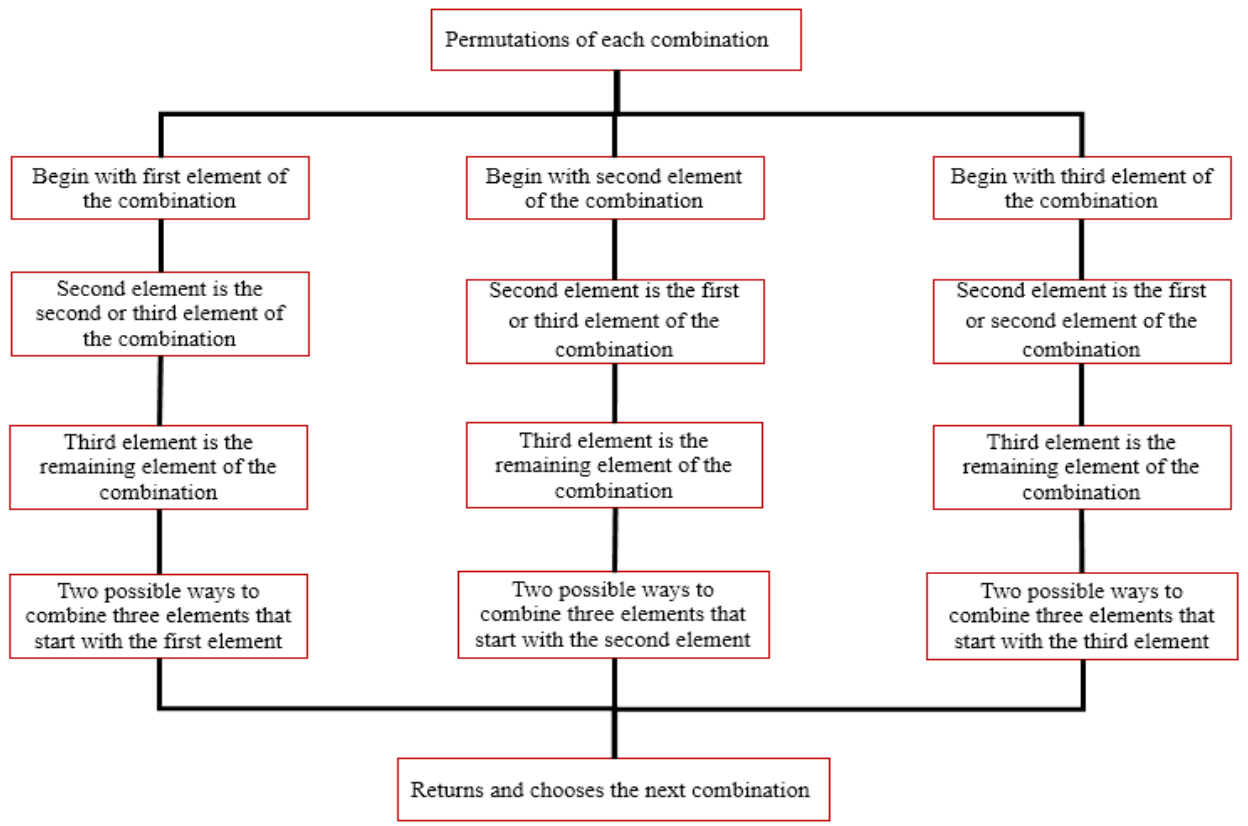


Figura A.3 - Diagrama de permutações para todas as combinações descritas na figura A.2

Referências

LITCHFIELD, C. **Analysis of Triglycerides**. 1st Edition, Academic Press: New York and London. Library of Congress Catalog Card Number: 72-77334. Printed in the United States of America, 8 – 249, 1972. ISBN: 9780323153522.

BERMAN, G.; FRYER, K. D. **Introduction to Combinatorics**. 1st Edition, Academic Press. Library of Congress Catalog Card Number: 70-182646, 35-45, 1972. ISBN: 978-0-12-092750-0.

KRISHNAN, V. **Probability and Random Processes**. John Wiley & Sons: Hoboken, NJ, 28-32. 2006. ISBN-13: 978-1118923139.

ERICKSON, M. J. **Introduction to Combinatorics**. John Wiley & Sons: New York, 28- 32. 2006. ISBN-13: 978-1118637531.

AITZETMULLER, K. Recent Progress in the High Performance Liquid Chromatography of Lipids. **Progress Lipid Research**, v. 21, p. 171-193, 1982. doi.org/10.1016/0163-7827(82)90008-X.