

DANÚBIA JOANES ROSA GUERRA

**AVALIAÇÃO DE DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE
CAROTENOIDES DA POLPA E TORTA DA MACAÚBA COM SOLVENTES
VERDES**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Frederico Augusto Ribeiro de Barros

Coorientadores: Ceres Mattos Della Lucia
Moysés Naves de Moraes

VIÇOSA-MG

2024

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

G934a
2024

Guerra, Danúbia Joanes Rosa, 1996-

Avaliação de diferentes métodos de extração de
carotenoides da polpa e torta da macaúba com solventes verdes /
Danúbia Joanes Rosa Guerra. – Viçosa, MG, 2024.

1 dissertação eletrônica (66 f.): il. (algumas color.).

Inclui apêndices.

Orientador: Frederico Augusto Ribeiro de Barros.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Tecnologia de Alimentos, 2024.

Referências bibliográficas: f. 53-59.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2024.654>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Macaúba. 2. Compostos bioativos das plantas.
3. Carotenoides. 4. Extração (Química). 5. Macaúba -
Tecnologia pós-colheita. 6. Sustentabilidade. I. Barros, Frederico
Augusto Ribeiro de, 1983-. II. Universidade Federal de Viçosa.
Departamento de Tecnologia de Alimentos. Programa de
Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos.
III. Título.

CDD 22. ed. 633.851

Bibliotecário(a) responsável: Bruna Silva CRB-6/2552

DANÚBIA JOANES ROSA GUERRA

**AVALIAÇÃO DE DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE
CAROTENOIDES DA POLPA E TORTA DA MACAÚBA UTILIZANDO
SOLVENTES VERDES**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 29 de agosto de 2024

Assentimento:



Documento assinado digitalmente
DANUBIA JOANES ROSA GUERRA
Data: 07/11/2024 12:19:52-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Danúbia Joanes Rosa Guerra

Autora



Documento assinado digitalmente
FREDERICO AUGUSTO RIBEIRO DE BARROS
Data: 07/11/2024 14:37:25-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Frederico Augusto Ribeiro de Barros

Orientador

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por Sua infinita bondade e pelas bênçãos concedidas, assim como pelas pessoas especiais que colocou em minha vida.

A meus pais, Eni e Dimas, meus maiores exemplos de determinação e força, por sempre priorizarem minha educação, e à minha irmã, Pâmela, pelo apoio, conselhos e alegria que tornaram essa jornada mais leve.

Ao meu namorado, Naelton, pelo amor, apoio e incentivo que tornaram os caminhos da minha vida mais centrados e positivos.

À minha avó Idalina (*in memoriam*), que sempre se orgulhou de minhas conquistas, cuja memória continua a me motivar. Às AMIGAS de todas as horas, pelo apoio incondicional!

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de mais uma etapa de ensino público de qualidade, e ao Departamento de Tecnologia de Alimentos (DTA), incluindo secretarias, técnicos, professores, pós-graduandos e graduandos, pela contribuição em meu trabalho e formação.

Ao Prof. Dr. Frederico Barros, meu orientador, por sua orientação de excelência no Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA) e no grupo de estudos Bioactive Compounds and Carbohydrates (BIOCARB). Agradeço por todos os conselhos, ensinamentos e apoio, que foram essenciais para minha formação acadêmica e pessoal.

À Prof. Dra. Ceres Mattos Della Lucia, coorientadora deste projeto e responsável pelo Laboratório de Análise de Vitaminas (LAV), e sua equipe, pela infraestrutura e recepção, e à doutoranda Lívy, pelo auxílio nas análises.

Ao Prof. Dr. Moysés Naves de Moraes, coorientador, pelo acolhimento, paciência e pelas longas reuniões sobre estatística, sempre disponível e comprometido com o sucesso do projeto.

Aos membros do BIOCARB, pela companhia diária e por me inspirarem com suas incríveis conquistas. Agradeço especialmente à Carol, minha companheira de linha de pesquisa sobre Macaúba, pelo suporte e amizade, mesmo à distância.

Ao Prof. Dr. Paulo Stringheta, coordenador do Laboratório de Corantes Naturais e Bioativos (LaCBio), pela cessão do ultrassom, e à Dra. Amanda Nascimento, pelo suporte nas extrações.

Ao Laboratório de Nutrição Experimental (LANEX) e sua equipe, pela contribuição nas análises de composição química.

Ao Laboratório de Análises Toxicológicas e Nutricionais *in vivo* e *in vitro* (LANTIN), coordenado pela Prof. Luciana Azevedo, e à equipe em Alfenas, pela recepção e apoio.

À Prof^ª. Dra. Érica Nacif Rufino Vieira, pelo carinho e aos vizinhos/amigos do Laboratório 206, pelos momentos compartilhados, vocês foram um dos melhores presentes do mestrado!

Aos colegas da comissão do V Simpósio Integrado de Inovação em Tecnologia de Alimentos (SIITA), que estiveram comigo e dividiram as inseguranças e inúmeras alegrias do evento e da pós-graduação.

À empresa SOLEUM, pela cessão da polpa de macaúba e auxílio financeiro, e à cooperativa Grande Sertão de Montes Claros, pelo excelente trabalho no processamento de matérias-primas.

Aos órgãos de fomento, Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG), pela bolsa concedida; Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001; e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo financiamento deste estudo.

*“Que darei eu ao Senhor, por todos os
benefícios que me tem feito?” (Salmos 116:12).*

RESUMO

GUERRA, Danúbia Joanes Rosa, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, agosto de 2024. **Avaliação de diferentes métodos de extração de carotenoides da polpa e torta da macaúba com solventes verdes.** Orientador: Frederico Augusto Ribeiro de Barros. Coorientadores: Ceres Mattos Della Lucia e Moysés Naves de Moraes.

A macaúba (*Acrocomia aculeata*) é uma palmeira nativa do Brasil, conhecida por sua alta produtividade e versatilidade no uso do fruto, o que permite a utilização integral. A polpa da macaúba é rica em óleo, fibra alimentar e carotenoides. Após a extração do óleo, obtém-se a torta, um coproduto utilizado na produção de ração animal, devido à qualidade de seu conteúdo nutricional e à ausência de fatores complexantes, como fitatos e taninos. Na literatura, ainda não foram encontrados estudos que avaliassem a otimização da extração de carotenoides da polpa e da torta da macaúba utilizando solventes Geralmente Reconhecidos como Seguros (GRAS). Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi otimizar a extração dos carotenoides presentes na polpa e na torta da macaúba, utilizando diferentes métodos, para avaliar o efeito do calor e ultrassom, e solventes GRAS. Foram realizadas análises de umidade, lipídios, cinzas, proteínas, carotenoides totais, e fibra alimentar total, incluindo suas frações insolúveis e solúveis das farinhas de polpa e torta de macaúba. Otimizações da extração de carotenoides foram realizadas com acetato de etila, etanol e álcool isopropílico, solventes verdes, para avaliação do efeito da temperatura e ultrassom na extração de carotenoides da polpa e torta de macaúba. A polpa da macaúba apresentou alto teor de umidade (33,25%), lipídios (57,59%) e fibra alimentar total (27,31%), com a maior parte das fibras sendo insolúveis (20,96%). A torta apresentou menor umidade em comparação com a polpa e um teor reduzido de lipídios (26,51%). O acetato de etila se destacou como melhor solvente para extração de carotenoides da macaúba. O ponto ótimo de extração de carotenoides totais em banho-maria (BM-efeito da temperatura/tempo) foi a 60°C por 30 minutos, obtendo um valor de 219,33 µg/g. No ultrassom (UT), a condição otimizada também foi na mesma temperatura e tempo, com frequência de 45 kHz, resultando em 277,55 µg/g. O método tradicional, utilizando acetona, apresentou a maior média de extração, com 369,21 µg/g. Para a torta, a extração sob condições otimizadas obteve uma média de carotenoides totais de 106,33 µg/g (BM) e 124,23 µg/g (UT), e de 210,96 µg/g para o método tradicional. Os resultados indicaram que os carotenoides da polpa e torta de macaúba foram extraídos de modo

eficaz com acetato de etila e técnicas otimizadas, destacando o calor e o ultrassom como fatores cruciais para a eficiência, mesmo em temperaturas mais baixas. Dessa forma, carotenoides da macaúba podem ser extraídos de forma eficiente, utilizando solventes GRAS, o que estimulará sua utilização como corante natural e antioxidantes (em suplementos). O estudo também ressalta a macaúba como uma fonte promissora de compostos bioativos e propõe o aproveitamento dos resíduos da extração como fonte de fibras, contribuindo para a saúde e a sustentabilidade ambiental.

Palavras-chave: Macaúba; Compostos bioativos; Tecnologias de extração; Sustentabilidade.

ABSTRACT

GUERRA, Danúbia Joanes Rosa, M.Sc., Federal University of Viçosa, August 2024.
Evaluation of different extraction methods of carotenoids from macauba pulp and pulp press-cake using green solvents. Advisor: Frederico Augusto Ribeiro de Barros.
Co-advisors: Ceres Mattos Della Lucia and Moysés Naves de Moraes.

The macauba (*Acrocomia aculeata*) is a palm native to Brazil, known for its high productivity and versatility in fruit use, allowing for its full utilization. The macauba pulp is rich in oil, dietary fiber, and carotenoids. After oil extraction, the resulting pulp press-cake is a co-product used in animal feed production due to its high nutritional content and the absence of complexing factors, such as phytates and tannins.. In the literature, no studies have been found that evaluate the optimization of carotenoid extraction from macauba pulp and pulp press-cake using Generally Recognized as Safe (GRAS) solvents. Thus, this work aimed to optimize the extraction of carotenoids present in the pulp (MP) and pulp press-cake (PPC) of macauba using different methods to evaluate the effect of heat, ultrasound, and GRAS solvents. Analysis of moisture, lipids, ash, proteins, total carotenoids, and total dietary fiber, including its insoluble and soluble fractions, was conducted on MP and PPC flours. Carotenoid extraction optimizations were performed with ethyl acetate, ethanol, and isopropyl alcohol, green solvents, to evaluate the effect of temperature and ultrasound on the extraction of carotenoids from MP and PPC. The MP showed high moisture content (33.25%), lipids (57.59%), and total dietary fiber (27.31%), with most fibers being insoluble (20.96%). The PPC showed lower moisture content than the pulp and a reduced lipid content (26.51%). Ethyl acetate stood out as the best solvent for extracting carotenoids from macauba. The optimal point for total carotenoid extraction in a water bath (WB-temperature/time effect) was at 60°C for 30 minutes, yielding a value of 219.33 µg/g. In ultrasound (UT), the optimized condition was also at the same temperature and time, with a frequency of 45 kHz, resulting in 277.55 µg/g. The traditional method using acetone showed the highest average extraction with 369.21 µg/g. For the PPC, the extraction under optimized conditions yielded an average of 106.33 µg/g (WB) and 124.23 µg/g (UT), and 210.96 µg/g for the traditional method. The results indicated that carotenoids from MP and PPC were effectively extracted with ethyl acetate and optimized techniques, highlighting heat and ultrasound as crucial factors for efficiency, even at lower temperatures. Thus, macauba carotenoids can be efficiently

extracted using GRAS solvents, promoting their application as natural colorants and antioxidants in supplements. This study also underscores macauba as a promising source of bioactive compounds and suggests the valorization of extraction residues as a fiber source, contributing to both health and environmental sustainability.

Keywords: Macauba; Bioactive compounds; Extraction technologies; Sustainability.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	12
2.1 Macaúba (<i>Acrocomia aculeata</i>).....	12
2.2 Composição química e compostos bioativos	15
2.3 Extração de carotenoides	19
2.4 Aplicação dos carotenoides na indústria	23
3. OBJETIVOS	25
3.1 Objetivo geral.....	25
3.2 Objetivos específicos	25
4. MATERIAIS E MÉTODOS	25
4.1 Obtenção da polpa da macaúba	25
4.2 Extração do óleo e obtenção da torta	25
4.3 Composição centesimal.....	26
4.4 Delineamento experimental para extração dos carotenoides	27
4.4.1 Testes preliminares	27
4.4.2 Extração I (efeito da temperatura/tempo)	27
4.4.3 Extração II (ultrassom).....	29
4.5 Comparação entre os métodos.....	30
4.5.1 Extração convencional	30
4.6 Caracterização e quantificação dos carotenoides obtidos pelas extrações	31
4.7 Análise estatística.....	31
5.1 Composição centesimal da polpa e torta da macaúba.....	32
5.2 Otimização da extração de carotenoides da polpa e torta da macaúba.....	33
5.2.1. Testes preliminares	33
5.2.2. Extração I (efeito do tempo e temperatura).....	34
5.2.3. Extração II (Efeito do Ultrassom).....	43
5.3 Comparação dos métodos aplicados	51
6. CONCLUSÃO.....	52
7. REFERÊNCIAS	53
8. APÊNDICES	60
8.1 Apêndice A- Testes preliminares com maiores faixas de temperatura e diferentes solventes.	60
8.2 Apêndice B- Delineamento exploratório com diferentes solventes e faixa de temperatura estabelecida.	61

1. INTRODUÇÃO

A macaúba (*Acrocomia aculeata*) é uma palmácea nativa do território brasileiro que, ao contrário de outras espécies como o dendezeiro, girassol, pinhão-manso e a colza, a produção da macaúba não demanda amplas áreas de desmatamento e o uso exacerbado de herbicidas (Fernández-Coppel *et al.*, 2018). O cultivo da macaúba se destaca pela sustentabilidade, visto que mesmo com a grande quantidade de resíduos sólidos produzidos pelo fruto, estes podem ser utilizados na indústria, agregando valor ao mercado dessa cultura. Sua elevada produtividade e a versatilidade na utilização do fruto da macaúba faz com que partes comestíveis como a amêndoa e polpa possam ser aplicadas em produtos de panificação, bebidas e sorvetes (Pereira *et al.*, 2021).

A polpa é rica em óleo, fibra alimentar e carotenoides. No óleo da polpa, destaca-se o alto conteúdo de ácido oleico, sendo este semelhante ao do azeite de oliva extra virgem, que auxilia na redução da síntese de lipoproteínas de baixa densidade (LDL). Após o processo de extração do óleo, obtém-se a torta, um coproduto relevante para o mercado, voltado para a produção de rações para animais, devido ao seu valor nutricional e ausência de fatores antinutricionais (Aoqui, Favaro e Moreno, 2012; Queiroz, 2016; Grande e Cren, 2016; Goulart, 2018; Munhoz *et al.*, 2018). Os carotenoides, pigmentos lipossolúveis de cor amarelo-alaranjado-vermelho, são outros compostos importantes presentes na polpa e torta da macaúba. Na macaúba, podem estar presentes o α -caroteno, β -caroteno, luteína, β -criptoxantina, licopeno e zeaxantina (Maoka, 2020; Mortensen, 2006; Pérez-Gálvez; Viera; Roca, 2020). Recentemente, Sant'Ana *et al.* (2023) demonstraram os efeitos dos carotenoides e do ácido oleico contidos no óleo da polpa da macaúba na prevenção do estresse oxidativo, inflamação e adipogênese, bem como no aumento da capacidade antioxidante em ratos que consumiram uma dieta rica em gordura.

Neste sentido, é importante buscar métodos de extração de carotenoides da macaúba que sejam seguros e sustentáveis, a fim de se obter extratos que possam ser aplicados em alimentos, atuando como corantes naturais ou suplementos com propriedades bioativas. Assim, tem crescido a utilização de solventes GRAS (Geralmente reconhecido como seguro), como etanol, acetato de etila e álcool isopropílico, como uma alternativa aos solventes tóxicos comumente usados, como metanol, acetona, clorofórmio, hexano e éter de petróleo. Ademais, para se obter um maior conteúdo de carotenoides e demais compostos bioativos durante a extração, tem-se utilizado as tecnologias não convencionais, como o ultrassom e o fluido supercrítico (Regal *et al.*, 2020; Menezes Silva *et al.*, 2023). Menezes Silva *et al.* (2023) avaliaram o efeito de diferentes solventes

e métodos de extração de carotenoides da casca de frutos da pupunheira, e observaram diferentes perfis destes compostos. Na extração utilizando etanol e o ultrassom, foi possível obter maiores teores de (all- E)- δ -caroteno, cerca de duas vezes mais do que outros métodos avaliados no estudo, como maceração e agitação utilizando agitador magnético.

Tendo em vista a alta produtividade do fruto da macaúba, a extração dos carotenoides pode impactar significativamente na utilização da polpa e torta pela indústria, para uso direto, ou para produção de extratos ricos em carotenoides. Além disso, pode se realizar um maior aproveitamento da torta, ao implementar a sua aplicação na alimentação humana ampliando não só a sua aplicação, mas também tornando-se uma fonte alternativa para a geração de renda da agroindústria e comunidades rurais produtoras de macaúba. Deste modo, o presente estudo tem como objetivo otimizar a extração dos carotenoides presentes na polpa e torta da macaúba utilizando solventes GRAS e diferentes métodos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Macaúba (*Acrocomia aculeata*)

A macaúba (*Acrocomia aculeata*) é uma palmácea nativa do Brasil, que possui alta produtividade e versatilidade em sua utilização. Esta também é conhecida como ucajá, bocaiúva, coco espinho, mbocayá, coyol “gru-gru”, macaya Paraguai, palmiste (Queiroz, 2016) (Figura 1). Seu fruto pode ser aproveitado de forma integral, partes como a casca, polpa e amêndoa podem ser destinadas para a fabricação de produtos relacionados a nutrição animal e humana, além de estarem presentes na produção de biocombustíveis e energia (Ciconini *et al.*, 2013; Costa; Oliveira; Costa, 2018; Da Costa Lima Pires *et al.*, 2023).



Figura 1- Palmeira e frutos da Macaúba dispostos em cacho

Fonte: Elaboração própria.

Os frutos possuem formato esférico ou parcialmente achatado e os diâmetros que podem alcançar valores de 2,5 até 5,0 cm (Figura 2). A composição destes pode variar, considerando a variabilidade genética, o local de plantio e as condições climáticas. No entanto, estudos apresentam valores de 21% de epicarpo (casca), 38% de mesocarpo (polpa), 34% de endocarpo e 7% de endosperma (amêndoa) (Cargnin *et al.*, 2008; Nucci *et al.*, 2008).



Figura 2 - Frutos da Macaúba dispostos em cacho

Fonte: Elaboração própria.

O epicarpo (casca) tem aspecto ceroso, coloração marrom-amarelada e se rompe facilmente quando o fruto está maduro (Figura 3). O mesocarpo (polpa) possui textura fibrosa, sabor adocicado, com coloração amarelada. O endocarpo é fortemente aderido à polpa, sendo muito rígido e de coloração escura. A amêndoa está contida pelo endocarpo revestida por uma película bastante aderida, estes componentes formam a semente (Faria *et al.*, 2008; Nucci *et al.*, 2008).

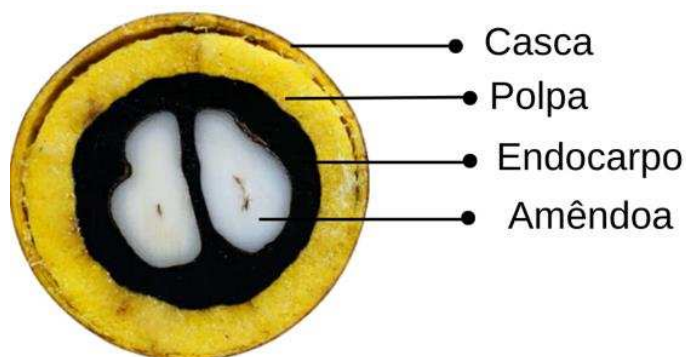


Figura 3 - Corte transversal e partes do fruto de macaúba

Fonte: Adaptada de Junqueira *et al.* (2019) - Embrapa Cerrados.

Dentre os componentes do fruto destacam-se as partes comestíveis como a polpa que possui gosto doce e pode ser aplicada *in natura* ou desidratada em produtos de panificação, bebidas e sorvetes. Além disso, trata-se de um componente extremamente nutritivo, rico em carotenoides que apresentam atividade antioxidante e atuam na proteção dos ácidos graxos insaturados contra a oxidação. A fim de se aproveitar todas as partes do fruto, após a extração do óleo da polpa, obtém-se a torta, produto de grande relevância no mercado, principalmente na produção de rações para animais, tendo em vista a ausência de fatores antinutricionais, comumente presentes em produtos similares à base de soja, girassol, amendoim e entre outras fontes, o que implica na necessidade de detoxicação e, conseqüentemente, em maiores gastos para a indústria produtora (Goulart, 2018; Grande; Cren, 2016; Munhoz *et al.*, 2018).

A amêndoa da macaúba também possui alto valor nutricional e tem sido amplamente utilizado em formulações alimentícias (De Souza *et al.*, 2020; Tilahun; Grossi; Favaro, 2022). Ademais, ao utilizar a amêndoa pode-se obter o isolado proteico, que possui alto teor de proteínas (94,9%), que se assemelham à caseína pela digestibilidade *in vitro* e pode ser uma alternativa para a indústria de alimentos na substituição das proteínas de origem animal no desenvolvimento de produtos para o público vegano ou vegetariano (Hiane *et al.*, 2006; Lopes Lessa *et al.*, 2022).

Em comparação com outras palmáceas, a macaúba se sobressai não só pela variedade dos coprodutos, mas por sua maior resistência em regiões com menor disponibilidade hídrica. Enquanto o dendezeiro pode ser encontrado em biomas da floresta tropical, a macaúba nasce naturalmente em regiões como o cerrado e o semiárido (Embrapa, 2019; Lanes; Costa; Motoike, 2014). Ao considerar a produtividade de óleo, a macaúba pode até superar o dendê, pois mesmo após a colheita, o fruto apresenta aumento da concentração de óleo na polpa (Moura; Ventrella; Motoike, 2010).

Além disso, a macaúba é uma espécie com grande potencial para diversificar as fontes de óleos vegetais, por se adaptar a uma gama de estressores ambientais sendo também utilizada na regeneração da cobertura vegetal de terras queimadas. Sua produção é mais benéfica ao meio ambiente quando comparada a outras culturas como colza, mamona, girassol e pinhão-manso, pois a sua produção não demanda o desmatamento de áreas e a utilização de herbicidas (Fernández-Coppel *et al.*, 2018).

Dentre outras características positivas desse cultivo, também destaca-se sua contribuição para o desenvolvimento econômico local, o que favorece a geração de empregos, resultando no desenvolvimento rural e na fixação da população nas áreas de

plantio (Lopes *et al.*, 2013; Pires *et al.*, 2023). Como forma de incentivar a exploração da macaúba, existem políticas públicas que apoiam os agricultores familiares, oferecendo a garantia de renda. Uma dessas políticas é o Programa de Aquisição de Alimentos (PAA), que tem como objetivo comprar os produtos advindos da agricultura familiar e disponibiliza-los para uma população em vulnerabilidade social ou insegurança alimentar e nutricional. Outro incentivo está relacionado ao Programa Nacional de Alimentação Escolar do Brasil (PNAE), que fortalece a agricultura familiar ao introduzir a obrigatoriedade de compra de produtos da agricultura familiar por estados e municípios (Sambuichi *et al.*, 2014). Neste sentido, a Lei nº 19.485, de 13 janeiro de 2011, também é importante e tem como objetivo instituir o incentivo ao cultivo, extração e comercialização da macaúba, bem como a regulamentação da sua exploração de modo mais eficiente. Ademais, a determinação visa possibilitar uma maior integração das comunidades que se beneficiam do plantio da palmácea. A implementação desta lei, se faz necessária considerando o cenário atual com grande demanda por matérias-primas que possam ser utilizadas para a produção sustentável de energia (Gerais, 2011).

2.2 Composição química e compostos bioativos

A composição química dos frutos da macaúba pode variar conforme alterações climáticas, modo de plantio, bem como condições relacionadas a colheita e pós-colheita. Por ser um fruto climatérico, mesmo após o recolhimento ocorre o amadurecimento, o que implica em alterações na composição e biodisponibilidade dos compostos (Grande; Cren, 2016; pereira *et al.*, 2018; Pinto, 2012). No estudo realizado por Munhoz *et al.* (2018) foram coletados os frutos de macaúba provenientes do município de Vicentina, Mato Grosso do Sul, enquanto no estudo de Pereira *et al.* (2021) foram utilizados os frutos imaturos, cultivados em Teresina no estado do Piauí. As diferenças na composição centesimal podem ser observadas na Tabela 1.

Tabela 1 - Composição centesimal de polpa da macaúba

Componentes	Polpa 1	Polpa 2
Umidade (%)	49,20	57,60
Carboidratos (%)	9,31	21,22
Proteína (%)	3,34	2,57
Lipídios (%)	30,38	3,20
Cinzas (%)	3,26	1,83
Fibra alimentar (%)	24,30	13,58
Valor energético total (kcal.100g)	418,74	124,34

Legenda: Polpa 1 (Munhoz *et al.*, 2018); polpa 2 (Pereira *et al.*, 2021). Fonte: Elaboração própria.

As diferenças observadas nos valores de umidade podem ser atribuídas a diferenças regionais e fatores ambientais relacionados ao solo e clima, sobretudo, fatores relacionados ao estágio de maturação dos frutos (Munhoz *et al.*, 2018; Pereira *et al.*, 2021). O elevado valor de umidade (49,20 e 57,60%) observado, pode levar a uma rápida degradação do fruto e favorecer o crescimento de microrganismos (Pereira *et al.*, 2021). Em outros estudos com a mesma espécie do fruto, variações semelhantes aos valores apresentados foram observadas. Na cidade de Piribebuy no Paraguai, as amostras apresentaram 56% de umidade, enquanto em outro estudo realizado com frutos dos biomas do Cerrado e do Pantanal, apresentaram variações de 49,1% a 63,0% (Bonet *et al.*, 2020; Ciconini *et al.*, 2013).

Componentes como carboidratos, lipídios e proteínas observados na Tabela 1, também podem sofrer influência dos fatores já mencionados. No entanto, Montoya *et al.* (2016) apresenta outra justificativa na qual as reservas de amido remanescentes no fruto, são convertidas em óleos após a abscisão, ou seja, na separação de uma ou mais estrutura (folhas, fruto, semente) das plantas mudanças químicas e físicas ainda ocorrem. É importante ressaltar que os carboidratos também sofrem alterações considerando os estágios de maturação, deste modo quanto mais maduro o fruto, maior a quantidade deste na composição (Pereira *et al.*, 2021).

As proteínas presentes na macaúba, encontram-se em maior concentração na amêndoa, assim as quantidades na polpa são menores. Os valores observados por Munhoz *et al.* (2018) e Pereira *et al.* (2021) são similares aos obtidos por Grand e Cren (2016), em que a polpa apresentou 2,98% de proteínas.

Quanto ao conteúdo de fibras, o estudo de Andrade *et al.* (2020), obteve 19,95 gramas na polpa da Macaúba, sendo 10,68 g de fibras solúveis e 9,26 g de fibras insolúveis. Os valores referentes as fibras totais, superam inclusive os da aveia em flocos (9,74 g/100g) e semente de gergelim (11,9 g/100g) (TACO, 2023). A Organização Mundial da Saúde, recomenda que a ingestão de fibras seja de 25 a 30 gramas por dia (WHO, 2003). As fibras apresentam efeitos prebióticos, por serem resistentes à digestão e absorção no intestino delgado e podem ser fermentadas no cólon por microrganismos benéficos, o que leva a produção de ácidos graxos de cadeia curta importantes para a homeostase intestinal (Cangussu; Fronza; Cavalcanti, 2020).

Com relação ao aumento do teor de óleo presente na polpa durante o armazenamento, isso ocorre como consequência do comportamento climatérico dos frutos da macaúba. Desta forma, o maior rendimento em óleo pode ser obtido por colheitas tardias associadas

ao armazenamento dos frutos (Goulart, 2018). Segundo Montoya *et al.* (2016) há uma conversão do amido, presente no início do desenvolvimento da polpa, em óleo, que se inicia por volta de 250 dias depois da maturação até o momento da abscisão. A composição de ácidos graxos da polpa da macaúba está indicada na Tabela 2, na qual observa-se o elevado conteúdo de ácido oleico presente no óleo da polpa de macaúba.

Tabela 2 - Perfil dos ácidos graxos do óleo da polpa de macaúba (%)

Ácido Graxo	Amaral <i>et al.</i> (2011)	Nunes <i>et al.</i> (2015)	Bonet <i>et al.</i> (2020)
Ácido Caprílico (C8:0)	-	-	0,21
Ácido Cáprico (C10:0)	-	0,2	0,11
Ácido Láurico (C12:0)	1,56	1,2	0,91
Ácido Mirístico (C14:0)	0,49	0,5	0,63
Ácido Palmítico (C16:0)	12,18	20,5	16,46
Ácido Palmitoleico (C16:1)	1,36	2,9	-
Ácido Estearico (C18:0)	2,64	3,6	3,51
Ácido Oleico (C18:1)	69,07	61,1	65,87
Ácido Linoleico (C18:2)	6,77	4,0	5,13
Ácido Linolênico (C18:3)	-	0,7	-

Fonte: Elaboração própria.

O ácido oleico presente no óleo da polpa é semelhante ao encontrado no azeite de oliva extra virgem, sugere-se que tenha ação biológica similar sobre o metabolismo de lipídios (Aoqui *et al.*, 2012). Visto que o ácido oleico é monoinsaturado, esta conformação molecular confere a redução da síntese de lipoproteínas de baixa densidade (LDL), que se acumulam nos vasos sanguíneos e formam placas aterogênicas. Em contrapartida, ocorre o aumento nos níveis da lipoproteína de alta densidade (HDL), que atua no transporte do colesterol livre dos tecidos e sangue para o fígado, onde será metabolizado e excretado (Fitó *et al.*, 2014). O que corrobora com o observado no estudo de Donat-Vargas *et al.* (2022), em que o consumo de azeite de oliva extra virgem esteve associado ao menor risco de Doença Cardiovascular (DCV) e Acidente Vascular Cerebral (AVC), sendo que o benefício máximo poderia ser obtido com um consumo de quantidades entre 20 e 30 g/dia.

Quanto aos compostos bioativos presentes na polpa, destacam-se os carotenoides e tocoferóis, como pode-se observar na Tabela 3. Os carotenoides são pigmentos sintetizados naturalmente por plantas, algas e microrganismos. O aumento deste composto e outras substâncias antioxidantes pode ser atribuído ao processo de amadurecimento do fruto e condições pós-colheita. Os carotenoides possuem natureza

lipossolúvel, deste modo durante a maturação ocorre o aumento no conteúdo de óleo do fruto, o que pode influenciar positivamente na quantidade de carotenoides. Na Macaúba, o epicarpo denso e impermeável confere proteção ao mesocarpo e consequentemente reduz o contato do óleo da polpa com o oxigênio, o que impede a oxidação de compostos (Goulart, 2018).

Tabela 3 - Composição em compostos bioativos da polpa da macaúba

Compostos bioativos	Polpa
Carotenoides totais (µg/g)	300,01
Tocoferóis totais (mg/kg)	212,95
α – Tocoferol (mg/kg)	143,70
β – Tocoferol (mg/kg)	3,25
γ – Tocoferol (mg/kg)	57,85
δ – Tocoferol (mg/kg)	8,15

Fonte: Coimbra & Jorge (2011)

Os dados apresentados na Tabela 3 mostram uma quantidade de 300 µg/g de carotenoides determinados por espectrofotometria na polpa da macaúba advinda da cidade de São Paulo. No estudo de Schex *et al.* (2018) foram os teores de carotenoides e tocoferóis das polpas dos frutos da Costa Rica em diferentes estágios de maturação, foram analisados por combinações de técnicas, desse modo, a separação de compostos foi realizada via Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detecção espectral por Detector de Arranjo de Diodos e identificação precisa de massas por Espectrometria de Massas com Ionização via Ionização Química a Alta Pressão Atmosférica. No mesocarpo ainda verde o teor de carotenoides totais foi de $2,09 \pm 0,99$ µg/g, nos frutos maduros, mas ainda no cacho a quantidade aumentou para $3,88 \pm 2,31$ µg/g, estes valores foram significativamente menores do que presentes nos frutos completamente maduros $8,72 \pm 1,78$ µg/g, coletados diretamente do solo.

Com relação ao perfil dos carotenoides, observa-se mudanças no perfil de acordo com o grau de maturação. Schex *et al.* (2018) observaram que a concentração média de xantofila do tipo (all- E)-luteína em frutos verdes era de $1,20 \pm 0,95$ µg/g, valor superior ao observado em frutos maduros $0,62 \pm 0,23$ µg/g. No entanto, estes resultados não alcançaram diferença estatística. Sabe-se que a luteína é um carotenoide dos cloroplastos de vegetais verdes e a redução em sua quantidade pode estar relacionada à degeneração durante o amadurecimento dos cloroplastos no mesocarpo do fruto.

Dentre os carotenoides totais presentes na polpa, cerca de 80 a 90% correspondem ao β-caroteno, que pode ser convertido em vitamina A (Souza, 2013). Os carotenoides pró e não-pró vitamina A possuem atividade antioxidante, atuando na prevenção de

doenças relacionadas a visão, ao sistema endócrino e imune (Pérez-Gálvez; Viera; Roca, 2020; Sant'Ana *et al.*, 2023). Outros frutos do cerrado brasileiro também são fontes de carotenoides, dentre eles o pequi (*Caryocar brasiliense* Camb) com teores de β -caroteno em torno 800 a 13.300 $\mu\text{g/g}$ na polpa (Geöcze *et al.*, 2021). Além dos carotenoides, os tocoferóis também podem apresentar maiores valores na polpa da macaúba, pois nesta parte há uma maior concentração de ácidos graxos insaturados que são naturalmente fontes de vitamina E, que atuam como antioxidantes. No estudo realizado por Coimbra e Jorge (2011) com óleo extraído das polpas de Guariroba, Jerivá e Macaúba, foi possível observar conteúdos de tocoferóis totais (mg/kg) de 45,13; 323,00 e 212,95, respectivamente. Enquanto para as frações de α -tocoferol (mg/kg) as quantidades foram de 36,33; 273,53 e 143,70. No teor de γ -tocoferol (mg/kg) o óleo da polpa de macaúba se destacou (57,85), enquanto no óleo de Jerivá obteve-se 5,47 e na Guariroba não foram detectados valores para este componente.

2.3 Extração de carotenoides

Os carotenoides são pigmentos lipossolúveis de cor amarelo-alaranjado-vermelho, também conhecidos como tetraterpenóides, constituídos por um hidrocarboneto com 40 átomos de carbono e 2 anéis terminais que são fundamentais para a cor. Estes compostos podem ser divididos em dois grupos: os carotenos, que possuem apenas carbono e hidrogênio em sua estrutura e as xantofilas compostas por átomos de carbono, hidrogênio e oxigênio (Figura 4). Em geral, os animais não podem sintetizar os carotenoides, desta forma a sua presença ocorre devido à ingestão alimentar. Estes pigmentos podem ser obtidos de plantas, algas, fungos e de forma sintética, sendo conhecidos cerca de 750 estruturas diferentes (Mortensen, 2006).

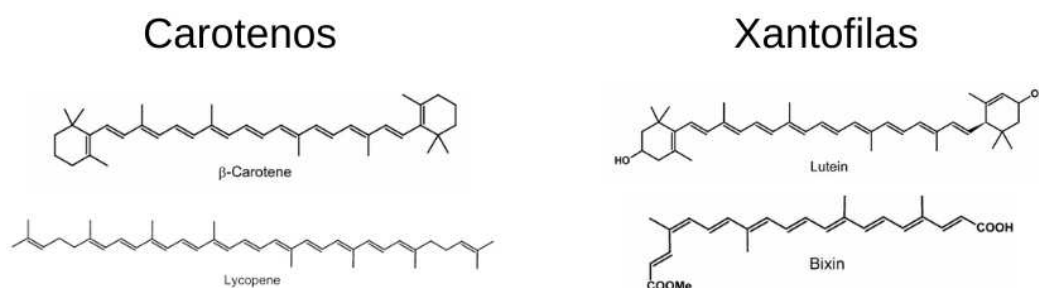


Figura 4 - Exemplo de estruturas dos grupos carotenos e xantofilas

Fonte: Adaptada de Mortensen (2006).

Nas células vegetais, os plastídios desempenham um papel central na regulação da biossíntese, estabilidade e atividade dos carotenoides e sua diversidade. Nos tecidos fotossintéticos, estes compostos atuam como pigmentos acessórios responsáveis pela

fotoproteção e na captação de luz, enquanto nos tecidos não fotossintéticos, os carotenoides atuam como corantes (Mortensen, 2006; Maoka, 2020).

Devido à natureza hidrofóbica dos carotenoides, estes devem ser extraídos por meio de solventes. Deste modo, é fundamental utilizar métodos adequados para a extração, tendo em vista a importância desta etapa para a obtenção de amostras de alta qualidade para fins analíticos e industriais. Durante as análises deste composto, é preciso considerar a sua instabilidade, sendo necessário evitar a exposição ao oxigênio, luz e altas temperaturas. Além disso, o método escolhido não pode afetar ou afetar minimamente o perfil e o teor de carotenoides (Menezes Silva *et al.*, 2023).

Na literatura, pode-se observar diversos métodos para a extração de carotenoides, desde os métodos convencionais, como maceração e agitação magnética, bem como aqueles que utilizam tecnologias não convencionais, como o ultrassom e o fluido supercrítico. Esses métodos são caracterizados por condições experimentais distintas, com etapas específicas de extração e uso de diferentes solventes, que podem afetar a composição qualitativa e quantitativa dos carotenoides, até na mesma matéria-prima (Rodriguez-Amaya, 2001; Mortensen, 2006; Regal *et al.*, 2020; Menezes Silva *et al.*, 2023).

A utilização de solventes verdes, também conhecidos como GRAS (Generally Recognized as Safe) tem sido amplamente discutida como alternativa aos solventes tóxicos comumente usados, como metanol, clorofórmio, hexano e éter de petróleo. Estes possuem alta toxicidade, levando a riscos relacionados à saúde humana, bem como comprometimento do meio ambiente após o descarte de forma incorreta (Mercadante *et al.*, 2017). Deste modo, tem crescido a utilização de solventes como o etanol, que é considerado seguro para alimentos, seletivo (com baixa a média polaridade) e acessível, tanto pelo preço quanto a não restrição da sua comercialização devido a segurança (Menezes Silva *et al.*, 2023).

Neste sentido, outros solventes como álcool isopropílico e acetato de etila também têm sido bastante utilizados, associados a tecnologias não convencionais, como ultrassom, fluido supercrítico e alta pressão, a fim de melhorar a eficiência da extração de carotenoides. Desta maneira, podem ser obtidos resultados mais rápidos e análises mais eficazes, além de proporcionar um perfil diferente de compostos (Menezes Silva *et al.*, 2023; Regal *et al.*, 2019; Sánchez-Camargo *et al.*, 2019). A partir de diferentes métodos de extração e solventes pode-se observar os resultados apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 - Resultados de carotenoides totais obtidos por diferentes métodos de extração e solventes

Referências	Matéria-prima	Solvente	Método	Carotenoides totais (µg/g)	Eficiência de extração (%) *
Coimbra e Jorge (2011)	Óleo da polpa da macaúba	Acetona /Éter de Petróleo	Maceração	300,00	100,00
Coimbra e Jorge (2011)	Óleo da amêndoa da macaúba	Acetona /Éter de Petróleo	Maceração	1,82	100,00
Menezes Silva <i>et al.</i> (2023)	Casca de frutos da pupunheira	Acetona/Éter de Petróleo	Maceração	410,00	59,42
Menezes Silva <i>et al.</i> (2023)	Casca de frutos da pupunheira	Etanol	Ultrassom	690,00	100,00
Pereira <i>et al.</i> (2023)	Polpa de Coquinho-azedo	-	Fluido supercrítico	139,93	100,00
Pereira <i>et al.</i> (2023)	Polpa de Coquinho-azedo	Hexano	Soxhlet	116,94	83,57
Pereira <i>et al.</i> (2023)	Polpa de Coquinho-azedo	Etanol	Soxhlet	52,24	37,33
Silva <i>et al.</i> (2022)	Polpa de Buriti	Acetona/Etanol	Ultrassom	918,00	100,00
Silva <i>et al.</i> (2022)	Polpa de Buriti	Acetona	Ultrassom	837,00	91,17

*Eficiência avaliada considerando valores e métodos propostos pela própria referência. Fonte: Elaboração própria.

Nota-se que dentre os resultados obtidos para a extração dos carotenoides relatadas na literatura, os resultados diferem ao considerar as diferentes matérias-primas, solventes e métodos empregados. Na macaúba, por exemplo ao avaliar o óleo da polpa e da amêndoa são encontrados valores bem distintos (Coimbra; Jorge, 2011). Mesmo com um maior teor de óleo, a amêndoa possui menos carotenoides totais, o que pode ser justificado, pois a polpa da macaúba possui elevado teor de β -caroteno, e que a presença dos ácidos graxos insaturados contidos no óleo da polpa, principalmente o ácido oleico, pode influenciar na maior biodisponibilidade do carotenoide (Hiane *et al.* 1990).

A acetona é um dos solventes mais utilizados, tendo em vista a maior afinidade dos carotenos por solventes mais apolares (Rodriguez-Amaya, 2001; Nellis *et al.*, 2017; Tilahun *et al.*, 2022). Ao avaliar a concentração de β -caroteno na polpa de macaúba pela extração com acetona, n-hexano e éter de petróleo, pode-se obter as seguintes quantidades

de β -caroteno ($\mu\text{g/g}$): 44,29; 7,33 e 8,48 respectivamente. Deste modo, pode-se observar que a acetona foi o solvente mais eficiente, porém a solução tornou-se turva, pois a acetona é um solvente que extrai os vários outros compostos presentes na amostra, o que dificulta a quantificação do β -caroteno ao utilizar somente o espectrofotômetro (Lima *et al.*, 2017).

Em relação ao teor de β -caroteno no mesmo estudo, o hexano por ser apolar apresentou boa eficiência na extração, porém menor que o éter de petróleo. A baixa concentração de carotenoides totais pode ser justificada pela instabilidade dos compostos durante o armazenamento, assim as estruturas podem sofrer isomerização e oxidação, por influência da temperatura, luz, concentração de oxigênio (Lima *et al.*, 2017; Mortensen, 2006).

Em outras metodologias foi possível verificar a combinação de solventes a fim de se obter uma melhor extração e evitar que os compostos se mantivessem expostos à solução extratora. Deste modo, uma associação comum entre solventes se dá pela utilização de etanol e éter de petróleo. Ao utiliza-los como solução extratora em frutas tropicais brasileiras, a média dos carotenoides totais pró-vitamina A (β -criptoxantina, β -caroteno e α -caroteno) variou de 0,0063 a 0,2389 $\mu\text{g/g}$ equivalente de atividade do retinol (RAE) nos frutos de bacuri e pequi, respectivamente (Assis *et al.*, 2020).

No estudo de Menezes Silva *et al.* (2023) foram utilizados 5 métodos para a extração de carotenoides da casca do fruto da pupunheira, dentre estes: maceração com acetona (controle), maceração com etanol, agitação magnética e orbital com etanol. Como resultados, os autores obtiveram o teor de carotenoides totais ($\mu\text{g/g}$) sem diferença estatística ao empregar o ultrassom ($667 \pm 73,3 \mu\text{g/g}$) e a maceração com acetona (controle) ($625,2 \pm 71,8 \mu\text{g/g}$). No entanto, o perfil dos carotenoides identificados foi diferente entre os tipos de extração realizados. Deste modo, a maceração com acetona apresentou teores de 13Z - δ -caroteno ($61,4 \mu\text{g/g}$), 6 vezes maiores do que na maceração com etanol ($10,2 \mu\text{g/g}$). Por outro lado, o ultrassom apresentou teores de (all- E)- δ -caroteno cerca de 2 vezes maiores do que outros métodos utilizados no estudo, como a maceração e agitação.

Neste sentido, o uso do ultrassom é interessante pois, as ondas causadas pela vibração mecânica do solvente formam bolhas, que podem crescer e colapsar, sendo este fenômeno denominado cavitação acústica. Esta é responsável por causar diversos efeitos físicos na matéria-prima, como aumento de temperatura e pressão. Como consequência, esse fenômeno pode quebrar o tecido da planta aumentando a taxa de transferência de massa

de compostos bioativos da amostra para o solvente (Menezes Silva *et al.*, 2023; Phan *et al.*, 2021; Regal *et al.*, 2019; Silva *et al.*, 2022).

Estudos recentes têm utilizado o ultrassom, uma tecnologia promissora que combinada a diferentes solventes tem garantido resultados exitosos na extração de carotenoides de diferentes matérias-primas. O tempo reduzido para a extração é uma de suas vantagens, além disso, os valores previstos para carotenoides totais, podem superar os obtidos com as técnicas convencionais, como a maceração. Assim como o estudo de Silva *et al.*, 2022, em que o rendimento da extração de carotenoides a partir do ultrassom, foi duas vezes maior que os métodos conhecidos na literatura para buriti, sendo o β -caroteno o composto majoritário nos extratos (Umair *et al.*, 2021; Monteiro *et al.*, 2022; Huang *et al.*, 2022; Menezes Silva *et al.*, 2023)

Dentre as tecnologias não convencionais, também tem crescido a utilização da extração com fluido supercrítico, pois o solvente com maior uso é o CO₂ devido suas condições amenas, estar em fase gasosa a pressão e temperatura ambiente, assim os resíduos de solventes no extrato são eliminados. Além disso, o gás carbônico não é inflamável e destaca-se como solvente de baixo custo (Maul; Wasicky; Bacchi, 1996).

No estudo de Pereira *et al.* (2023), o fluido supercrítico foi utilizado para a extração de carotenoides da polpa de Coquinho-azedo (*Butia capitata*). Esse método demonstrou maior eficiência e seletividade na extração de compostos apolares, especialmente quando as condições de 50 °C e a pressão de 350 bar foram aplicadas, em comparação a utilização de solventes como hexano e etanol, que obtiveram respectivamente 83,57% e 37,33% de eficiência de extração. Em outro estudo, a mesma tecnologia foi empregada para se obter os carotenoides do óleo de Tucumã-do-Pará, que apresentou maior concentração de carotenoides a 40 °C e 400 bar (Menezes *et al.*, 2022). Nesta técnica, as condições de pressão e temperatura são importantes para a extração de compostos bioativos em diferentes matrizes vegetais, pois a alta pressão do CO₂ permite que o solvente penetre na matriz celular, o que proporciona maior extração. No entanto, a temperatura mais baixa pode favorecer a extração dos compostos termolábeis (Menezes *et al.*, 2022; Pereira *et al.*, 2023; Regal *et al.*, 2019).

2.4 Aplicação dos carotenoides na indústria

A atenção global tem se voltado para medidas que visam a redução da poluição, utilização consciente dos recursos naturais e a sustentabilidade ambiental. Nesse contexto, o interesse por corantes naturais tem crescido, especialmente para o uso em substituição aos sintéticos, devido à maior segurança que oferecem, sendo atóxicos, não

cancerígenos e biodegradáveis. Além disso, alguns corantes naturais se destacam por ter propriedades de proteção ultravioleta, antimicrobianas e antioxidantes (Phan *et al.*, 2021).

Os pigmentos naturais encontram ampla utilização na indústria farmacêutica e alimentícia. No entanto, o alto custo de determinadas matérias-primas, a reduzida diversidade de cores, aceitação dos consumidores e menor ligação com os tecidos têm representado para a implementação destes corantes na indústria têxtil (Phan *et al.*, 2021; Mabuza, Sonnenberg e Marx Pienaar, 2023; Yadav *et al.*, 2023).

Outro destaque é a utilização de carotenoides no desenvolvimento de embalagens inteligentes, onde podem ser incorporados em filmes ou revestimentos, atuando como indicadores de frescor. Esse mecanismo baseia-se na mudança de cor dos carotenoides em resposta a alterações no ambiente, como mudanças do pH ou presença de gases que podem contribuir para a deterioração dos alimentos. Além disso, devido às suas propriedades antioxidantes, os carotenoides podem ser usados para prolongar a vida útil dos alimentos, evitando a oxidação de lipídeos e outros componentes sensíveis, o que pode ser útil principalmente para o acondicionamento de produtos ricos em gordura (Kumar *et al.*, 2024).

Atualmente, o mercado tem buscado por alternativas que otimizem o aproveitamento das matérias-primas, com a finalidade de reduzir as perdas agrícolas, principalmente relacionadas ao processamento de frutas e vegetais (Phan *et al.*, 2021). Em estudo de Phan *et al.* (2021), foram descritas a extração de três classes de corantes: antocianinas, quinonas, e os carotenoides, além de sua posterior aplicação no processo de tingimento. Para os carotenoides foi possível observar a utilização de extratos advindos de cenoura, casca do tomate e abóbora.

Neste sentido, como forma de promover a sustentabilidade na indústrias de alimentos, têm-se buscado por alternativas para o aproveitamento integral de matérias-primas, como frutas e vegetais, visando à redução de resíduos, provenientes de partes como sementes e cascas (Dias *et al.*, 2020). No entanto, essas partes poderiam ser utilizadas como co-produtos destinados à extração, visto que podem ser fontes de carotenoides e outros compostos bioativos (López Bermúdez *et al.*, 2022). O tomate é um exemplo de fonte de carotenoides, como o licopeno, que apresenta maiores concentrações de compostos bioativos na casca. Apesar do seu alto valor nutricional, as cascas são descartadas como resíduos, mas poderiam ser aproveitadas na ração animal e alimentação humana, promovendo a sustentabilidade ao longo de toda a cadeia de processamento (Rahimi; Mikani, 2019).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Otimizar a extração dos carotenoides presentes na polpa e torta da macaúba (*Acrocomia aculeata*) utilizando diferentes métodos e solventes GRAS.

3.2 Objetivos específicos

- Extrair o óleo da polpa e obter a torta de macaúba;
- Realizar análises de composição centesimal na polpa e torta de macaúba;
- Conduzir testes preliminares para a extração de carotenoides da polpa e torta da macaúba, utilizando diferentes solventes GRAS;
- Otimizar a extração de carotenoides da polpa e torta da macaúba, utilizando solventes GRAS e diferentes métodos, comparando-os com o método convencional;
- Caracterizar os extratos quanto ao teor de carotenoides.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

A preparação das amostras foi realizada no Laboratório de Pesquisa em Compostos Bioativos e Carboidratos, localizado no Departamento de Tecnologia de Alimentos (DTA) e no Laboratório de Processamento de Novos Produtos, no Departamento de Nutrição e Saúde (DNS). A obtenção do óleo e da torta, foi realizada na Cooperativa Grande Sertão em Montes Claros, Minas Gerais. As análises para a quantificação e identificação de carotenoides, foram realizadas no Laboratório de Análise de Vitaminas, no Departamento de Nutrição e Saúde, na Universidade Federal de Viçosa (UFV).

4.1 Obtenção da polpa da macaúba

Os frutos da macaúba, da safra de 2023, foram adquiridos em Araponga, MG e fornecidos pela empresa Soleum. Após a colheita, os frutos ficaram armazenados durante 10 dias com o objetivo de aumentar o conteúdo de óleo (Goulart, 2018). Decorrido este tempo, foi realizado o descascamento e despulpamento de forma manual. Posteriormente, a polpa foi armazenada em um freezer com temperatura de - 18 °C até o início do processamento e das análises.

4.2 Extração do óleo e obtenção da torta

Para a extração do óleo, a polpa (Figura 6A) foi previamente seca a 30°C em estufa de circulação de ar (CIENLAB CE220, Brasil) por 24 horas. Em seguida, a amostra foi levada para uma prensa contínua (Scott Tech®) com capacidade nominal de 50 kg/h. Após

a obtenção do óleo extraído, este foi centrifugado (centrífuga Nova Ética®) a 6000 rpm por 20 minutos, e então o conteúdo sobrenadante foi armazenado em freezer a -18°C.

A torta (Figura 6 B), obtida após a extração do óleo da polpa, também foi armazenada nas mesmas condições até o momento da moagem. Na preparação para a extração de carotenoides, tanto a polpa quanto a torta foram moídas usando um moinho de rotor de martelo fixo (Marconi – MA090CFT) equipado com uma malha de peneira de 1,70 mm (1700 µm). Posteriormente, os produtos moídos (Figuras 6 C e D) foram armazenados em freezer a -18°C até o início do processo de extração. Para garantir a homogeneidade da farinha, ela foi novamente peneirada em peneira com o mesmo tamanho de abertura (1,70 mm), sendo descartado os resíduos maiores.

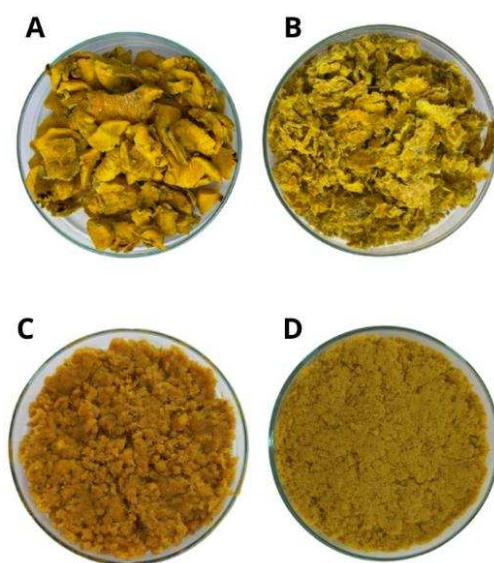


Figura 6 - Polpa (A) e torta (B) íntegras e moídas (C e D) respectivamente

Fonte: Elaboração própria.

4.3 Composição centesimal

Foram realizadas análises de umidade, lipídios, cinzas e proteínas em três repetições, utilizando os métodos preconizados pela *Official Analytical Chemistry Association* (AOAC, 2019). A fibra alimentar total, insolúvel e solúvel foram avaliadas de acordo com o método enzimático gravimétrico (AOAC, 2019), utilizando kit específico (Megazyme®). Os carboidratos foram calculados como a diferença, utilizando a seguinte equação: $[100 - (\% \text{ de umidade} + \% \text{ de lipídios} + \% \text{ de proteínas} + \% \text{ de fibra alimentar total} + \% \text{ de cinzas})]$. Para o cálculo do valor energético, foram utilizados os valores de proteínas, lipídios e carboidratos, sendo multiplicados por 4, 9 e 4 kcal/g, respectivamente.

4.4 Delineamento experimental para extração dos carotenoides

4.4.1 Testes preliminares

Foram realizados testes preliminares (TP) inicialmente considerando três tipos de solventes (acetato de etila, álcool isopropílico e etanol) como variável categórica, enquanto as variáveis contínuas foram o tempo (5 e 30 minutos) e a temperatura (25, 40, 50, 60 e 70°C), a fim de se obter as melhores condições para a realização dos delineamentos experimentais em banho-maria e ultrassom. Após os resultados obtidos, foram realizadas mudanças nas faixas de temperatura (Apêndice A).

Deste modo, foram realizados outros ensaios utilizando banho-maria (TP-1), com um total de 84 experimentos, e ultrassom (TP-2), com 216 ensaios, para determinar o solvente mais adequado para os processos de otimização. No entanto, o número de ensaios para os testes com ultrassom não seria viável para execução, o que resultou em uma adaptação. Assim, o desenho experimental para o equipamento foi ajustado para incluir 32 ensaios, considerando os dados de tempo (5 e 30 minutos), temperatura (25 e 60°C), e frequências (25 e 45 kHz), mantendo a potência do equipamento fixa em 400 W (Apêndice B).

Após obter os resultados do delineamento exploratório inicial, foi possível confirmar que o acetato de etila foi o solvente que extraiu maior quantidade de carotenoides totais. Dessa forma, foi realizado um ensaio com o acetato de etila para avaliar o efeito do calor, em banho-maria (extração I - 56 experimentos), considerando os mesmos tempos e temperaturas de 25, 42,5 e 60°C. Para o ensaio de otimização no ultrassom (extração II - 32 experimentos), o mesmo solvente foi utilizado e as condições de tempo, temperatura, frequências e potência citadas, foram mantidas. Baseado nesses resultados, foi proposto um estudo de otimização utilizando o Delineamento Composto de Face Centrada. Detalhes da metodologia utilizada e resultados, constam no material suplementar (Apêndice B).

4.4.2 Extração I (efeito da temperatura/tempo)

As extrações foram realizadas em banho-maria (digital, tipo Dubnoff com agitação, Nova Ética®), utilizando a polpa e a torta previamente moídas. Foram pesados diretamente em tubos Falcon de 50 mL, 1 grama de polpa ou torta, e em seguida adicionados 30 mL de acetato de etila. As amostras foram levadas ao banho-maria com agitação de 60 RPM, seguindo impreterivelmente a ordem experimental proposta na Tabela 5. Após completar o tempo e a temperatura de cada experimento, os extratos foram retirados do equipamento, filtrados em filtros de papel, e os conteúdos filtrados foram

transferidos para outros tubos e centrifugados (6000 RPM/20 min). Em seguida, o conteúdo sobrenadante de cada extrato foi coletado e transferido para tubos Falcon revestidos com papel alumínio, sendo o conteúdo de carotenoides totais analisados no mesmo dia. Após as análises, os extratos foram armazenados em abrigo da luz, em um freezer a -5 °C.

Tabela 5 - Proposta de desenho experimental para a extração de carotenoides totais da polpa e torta de macaúba em banho-maria

Experimentos (n°)	Temperatura (C°)	Tempo (min)
1	42,5	17,5
2	42,5	17,5
3	42,5	17,5
4	25	30
5	60	30
6	60	5
7	25	5
8	25	5
9	42,5	17,5
10	42,5	17,5
11	25	30
12	42,5	17,5
13	60	30
14	60	5
15	42,5	17,5
16	42,5	17,5
17	42,5	30
18	42,5	17,5
19	42,5	17,5
20	42,5	30
21	25	17,5
22	25	17,5
23	42,5	5
24	60	17,5
25	42,5	17,5
26	42,5	5
27	42,5	17,5
28	60	17,5

Fonte: Elaboração própria.

Para esse conjunto de experimentos fatoriais, foi escolhido o Delineamento Composto de Face Centrada com três pontos (fatorial, axial e central). O modelo foi constituído de 8 experimentos fatoriais, 8 axiais e 12 experimentos no ponto central, totalizando 28 experimentos sendo aplicados tanto na polpa, quanto na torta (56

experimentos). As variáveis independentes e seus respectivos níveis foram temperatura (X_1) 25; 42,5 e 60°C e tempo (X_2) 5; 17,5 e 30 minutos, apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 – Detalhes do desenho experimental utilizado para a extração I

Unidades	Fatores	Níveis		
		-1	0	+1
Temperatura (C°)	X_1	25	42,5	60
Tempo (min)	X_2	5	17,5	30

Fonte: Elaboração própria.

4.4.3 Extração II (ultrassom)

As extrações foram realizadas em banho ultrassônico (Unique, modelo USC 2800 A, Indaiatuba, Brasil), utilizando a polpa e a torta previamente moídas. As matérias-primas foram pesadas diretamente em tubos Falcon com capacidade de 50 mL. Foram adicionados 1 grama de polpa ou torta, e em seguida 30 mL de acetato de etila. As amostras foram levadas para o equipamento, seguindo o delineamento experimental em parcela subdividida (*Split-plot*) cuja ordem experimental é apresentada na Tabela 7. Após completar o experimento, as amostras foram retiradas do equipamento. Em seguida, os extratos foram filtrados em filtros de papel, e os conteúdos filtrados foram transferidos para outros tubos e centrifugados (6000 RPM/20 min). Em seguida, o conteúdo sobrenadante de cada extrato foi coletado e transferido para tubos Falcon envoltos por papel alumínio, sendo o conteúdo de carotenoides totais analisados no mesmo dia. Após as análises, os extratos foram armazenados em abrigo da luz, em um freezer a -5 °C.

Tabela 7 - Proposta de desenho experimental para a extração de carotenoides totais da polpa e torta de macaúba no ultrassom

Experimentos (n°)	Temperatura (°C)	Frequência (kHz)	Tempo (min)
1	25	45	5
2	25	45	30
3	60	25	30
4	60	25	5
5	60	45	30
6	60	45	5
7	25	25	5
8	25	25	30
9	60	45	5
10	60	45	30
11	25	45	5
12	25	45	30

Tabela 7 – Continuação: Proposta de desenho experimental para a extração de carotenoides totais da polpa e torta de macaúba no ultrassom

Experimentos (n°)	Temperatura (°C)	Frequência (kHz)	Tempo (min)
13	60	25	5
14	60	25	30
15	25	25	30
16	25	25	5

Fonte: Elaboração própria.

Devido às limitações do equipamento, que opera apenas em duas frequências (25 e 45 kHz), não foi possível incluir um ponto central para a frequência neste modelo. Além disso, a temperatura foi tratada como uma variável de difícil alteração para evitar mudanças drásticas e otimizar o tempo de execução dos experimentos, resultando na divisão dos experimentos em parcelas subdivididas. A Tabela 8 apresenta o delineamento experimental com as variáveis de difícil mudança (temperatura e frequência), devido às limitações. Deste modo, o modelo foi constituído de 16 experimentos fatoriais, sendo aplicados tanto na polpa, quanto na torta (totalizando 32 experimentos). As variáveis independentes e seus respectivos níveis foram temperatura (X_1) 25 e 60°C, tempo (X_2) 5, e 30 minutos e frequência (X_3) 25 e 45 kHz.

Tabela 8 - Detalhes do desenho experimental utilizado para a extração II

Unidades	Fatores	Níveis
Temperatura (C°)	X_1	25 60
Tempo (min)	X_2	5 30
Frequência (kHz)	X_3	25 45

Fonte: Elaboração própria.

4.5 Comparação entre os métodos

Os extratos produzidos pelo método convencional, e os pontos ótimos da extração I (diferentes tempos e temperaturas) e extração II (ultrassom) tiveram a eficiência da extração de carotenoides totais da polpa e torta da macaúba comparados. A eficiência da extração foi avaliada com base no teor de carotenoides totais ($\mu\text{g/g}$) dos extratos obtidos.

4.5.1 Extração convencional

A extração de carotenoides convencional foi realizada de acordo com a metodologia proposta por Rodríguez-Amaya (2001). Em 20 mL de acetona resfriada a 10 °C foram adicionados 2 g da farinha da polpa ou torta, e a extração foi realizada com um triturador de aço inoxidável. Esse processo foi repetido mais duas vezes, totalizando 60 mL de acetona gelada (ou até o extrato ficar incolor). O extrato total obtido foi filtrado em papel

filtro; o conteúdo filtrado foi transferido para um funil de separação contendo 50 mL de éter de petróleo resfriado a 10 °C. Cada fração foi lavada com água destilada (3 × 20 mL) para remover toda a acetona e os pigmentos foram consequentemente transferidos para a fase de éter de petróleo. Essas fases de éter de petróleo foram armazenadas em frascos âmbar a -5 °C até o momento da análise.

4.6 Caracterização e quantificação dos carotenoides obtidos pelas extrações

A concentração de carotenoides totais foi determinada em todos os extratos obtidos no método I, II e convencional de acordo com Rodriguez-Amaya (2001). Em ambiente escuro, foram transferidas uma alíquota de aproximadamente, 2 mL da amostra para cubetas de vidro para realizar a leitura no equipamento a 450 nm. Foi utilizado o solvente de interesse para a extração como solução de referência (branco) para zerar o espectrofotômetro. Nos casos em que a absorbância da amostra atingiu valores menores que 0,2 foi necessário concentrá-la, mas ao assumir valores maiores que 0,8, foi necessário realizar a diluição. As leituras foram realizadas em duplicata e a média das leituras foram calculadas. A concentração de carotenoides totais foi expressa em micrograma de carotenoides por grama (µg/g), usando a Equação 1 (Davies, 1976).

$$\text{Carotenoides totais} = \frac{A \times V \times 10^4}{E_{1cm}^{1\%} \times m}$$

Sendo: A = absorbância do extrato em 450 nm; V = volume da amostra (mL); m = massa da amostra (g); $E_{1cm}^{1\%}$ = coeficiente de extinção (β-caroteno no solvente de interesse) (Rodriguez-Amaya, 1999).

4.7 Análise estatística

Os resultados, do delineamento inicial de extração, foram avaliados estatisticamente por meio da Análise de Variância da Regressão (ANOVA) ao nível de 95% de significância. Essa análise possibilitou a obtenção de equações que foram representadas graficamente por curvas de superfície de resposta, as quais são amplamente utilizadas para identificar regiões de otimização do processo. A análise estatística do delineamento subsequente foi realizada por meio da ANOVA para parcelas subdivididas, com o objetivo de determinar fatores significativos, seguida do teste de médias de Tukey para a identificação dos agrupamentos formados.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Composição centesimal da polpa e torta da macaúba

A composição centesimal e o valor energético da polpa e torta da macaúba estão apresentados na Tabela 9.

Tabela 9 - Composição centesimal e valor energético da polpa e torta da macaúba (*Acrocomia aculeata*) (Araponga, MG)

Componentes¹	Polpa	Torta
Umidade (%)	33,25 ± 0,19	8,25 ± 0,45
Carboidratos (%)	5,84 ± 0,30	26,39 ± 0,33
Proteína (%)	6,04 ± 0,31	6,05 ± 0,56
Lipídios (%)	57,59 ± 0,24	26,51 ± 0,24
Cinza (%)	3,20 ± 0,03	5,94 ± 0,05
Fibra alimentar (%)		
FAT	27,31 ± 0,01	35,04 ± 0,43
FAS	6,35 ± 0,79	11,03 ± 0,69
FAI	20,96 ± 0,80	24,01 ± 0,26
Valor Energético Total (kcal.100g)	565,8 ± 0,04	369,6 ± 0,28

FAT: Fibra Alimentar Total; FAS: Fibra Alimentar Solúvel; FAI: Fibra Alimentar Insolúvel. ¹Valores expressos em base seca, apresentados como média ± desvio padrão.

Fonte: Elaboração própria.

A polpa da macaúba apresentou elevado teor de umidade (33,25%), lipídios (57,59%) e fibras alimentar total (27,31%), predominando fibras insolúveis (20,96%) (Tabela 6). As calorias provenientes da polpa derivaram majoritariamente dos lipídios, sendo o óleo rico em carotenoides. Um estudo recente investigou os efeitos desse óleo na prevenção do estresse oxidativo, inflamação e adipogênese em camundongos alimentados com uma dieta rica em gordura, sugerindo seu potencial antioxidante (Sant' Ana *et al.*, 2023).

Coimbra e Jorge (2011) relataram valores próximos de proteínas (6,72%), cinzas (3,20%) e fibra alimentar total (20,26%) em comparação com este estudo. No entanto os níveis de umidade (5,98%), lipídios (28,94%) e carboidratos (36,22%) diferiram, possivelmente pelas variações climáticas das regiões de plantio dos frutos da macaúba. Além disso, deve-se considerar o fato de que a macaúba possui frutos climatéricos, ou seja, mesmo após a colheita ainda ocorre o amadurecimento, o que implica na alterações na composição e biodisponibilidade dos nutrientes (Grande; Cren, 2016; Munhoz *et al.*, 2018; Pinto, 2012). Essas mudanças podem afetar os teores de carboidratos e lipídios, com amido remanescente convertendo-se em óleos após a separação do fruto da palmeira.

Além disso, o conteúdo de carboidratos varia com o estágio de maturação, aumentando conforme o fruto amadurece (Montoya *et al.*, 2016; Pereira *et al.*, 2021).

A torta, um coproduto da extração de óleo da polpa, apresentou menor umidade quando comparada a polpa, o que é justificado pelo processo de secagem ao qual a polpa é submetida antes da extração do óleo, bem como pela retirada do conteúdo lipídico. Além disso, observou-se um teor reduzido de lipídios (26,51%), o que é esperado devido ao processo de extração que visa uma matéria-prima semi-desengordurada. A extração do óleo usando prensa de rosca contínua foi eficiente, removendo aproximadamente 46,03% dos lipídios da polpa. A composição da torta é pouco explorada na literatura, com estudos frequentemente reportando dados combinados com produtos desenvolvidos como rações animais (Dias *et al.*, 2021). Apesar disso, os dados indicam que a torta é nutricionalmente rica, especialmente em fibras totais ($35,04 \pm 0,43$), fibras solúveis ($11,03 \pm 0,69$), e insolúveis ($24,01 \pm 0,26$), valores próximos aos da polpa (27,31% de fibras totais).

A Organização Mundial da Saúde recomenda a ingestão diária de até 30 gramas de fibras (WHO, 2003). Essas fibras possuem efeitos prebióticos, pois são fermentadas por microrganismos intestinais benéficos, resultando na produção de ácidos graxos de cadeia curta, essenciais para a saúde intestinal (Cangussu; Fronza; Cavalcanti, 2020). Polpa e torta da macaúba podem ser alimentos promissores para dieta humana, oferecendo um perfil balanceado de fibras solúveis e insolúveis. Considerando os hábitos alimentares atuais, caracterizados pelo aumento de gorduras saturadas e carboidratos simples, e a diminuição de fibras e compostos bioativos na dieta, a polpa e a torta da macaúba surgem como potenciais alternativas nutritivas e prebióticas (Andrade *et al.*, 2020).

5.2 Otimização da extração de carotenoides da polpa e torta da macaúba

5.2.1. Testes preliminares

Foram realizados testes preliminares com três solventes (acetato de etila, álcool isopropílico e etanol), com o objetivo de explorar as melhores condições de extração de carotenoides totais da polpa e torta da macaúba. Inicialmente, foram testadas faixas de temperatura de 25, 40, 50, 60 e 70 °C e tempo de 5 e 30 minutos, em banho-maria. Nos ensaios em banho-maria (BM), os maiores conteúdos de carotenoides totais foram obtidos em extrações com acetato de etila (188,930 µg/g e 115,144 µg/g para polpa e torta, respectivamente) seguido do álcool isopropílico e etanol a 60 °C por 30 minutos. Em temperaturas de 70 °C, tanto em 5 quanto em 30 minutos, observou-se a redução no teor desses compostos (Apêndice A).

Com base nesses resultados, foram realizados novos ensaios com os mesmos solventes em banho-maria e ultrassom, mantendo as temperaturas citadas anteriormente até 60 °C. Nos ensaios em ultrassom, foram adicionadas as variáveis frequência (25 e 45 kHz) e potência (400 W). Novamente, as condições de destaque foram 60 °C por 30 minutos, com extração utilizando acetato de etila, resultando em um teor de carotenoides totais nos extratos de carotenoides da polpa e torta de 236,46 µg/g e 119,79 µg/g, respectivamente, em BM. Nos ensaios com ultrassom, os resultados obtidos foram de 270,00 µg/g para a polpa e 188,06 µg/g para a torta (Apêndice B).

5.2.2. Extração I (efeito do tempo e temperatura)

5.2.2.1 Extração de carotenoides da polpa de macaúba

Os experimentos em banho-maria totalizaram 56 ensaios, sendo 28 experimentos para cada matéria-prima. Conforme apresentado na Tabela 10.

Tabela 10 - Delineamento proposto para a extração em banho-maria e resultados obtidos na extração de carotenoides totais da polpa da macaúba

Experimentos (n°)	Temperatura (°C)	Tempo (min)	C.T Polpa (µg/g)
1	42,5	17,5	198,96
2	42,5	17,5	193,75
3	42,5	17,5	190,97
4	25	30	189,24
5	60	30	220,49
6	60	5	207,64
7	25	5	182,29
8	25	5	182,29
9	42,5	17,5	198,61
10	42,5	17,5	193,40
11	25	30	187,50
12	42,5	17,5	191,32
13	60	30	220,14
14	60	5	206,94
15	42,5	17,5	199,31
16	42,5	17,5	200,35
17	42,5	30	212,50
18	42,5	17,5	191,67
19	42,5	17,5	199,65
20	42,5	30	211,81
21	25	17,5	193,40
22	25	17,5	196,18
23	42,5	5	201,04
24	60	17,5	220,49

Tabela 10 – Continuação: Delineamento proposto para a extração em banho-maria e resultados obtidos na extração de carotenoides totais da polpa da macaúba

Experimentos (n°)	Temperatura (°C)	Tempo (min)	C.T Polpa (µg/g)
25	42,5	17,5	200,35
26	42,5	5	202,08
27	42,5	17,5	193,75
28	60	17,5	220,14

Legenda: CT: Carotenoides Totais (µg/g)

Os resultados apresentados indicam que a maior temperatura aplicada (60 °C) foi a mais eficaz para a extração de carotenoides totais (CT) da polpa da macaúba, independentemente do tempo de extração, com valores superiores a 220 µg/g (experimentos 5, 13, 24 e 28). Além disso, a faixa intermediária de temperatura (42,5°C) também resultou em extrações consistentes, com valores próximos a 200 µg/g, o que demonstra a uma boa eficiência para esse intervalo. Em contraste, as temperaturas mais baixas (25°C) apresentaram os menores rendimentos, o que sugere que o aumento da temperatura está relacionado com o aumento do poder de extração pelo solvente. O tempo de extração também teve influência, mas a temperatura mostrou-se um fator mais determinante para o rendimento, informação essa que pode ser obtida pelo maior valor do coeficiente.

A Tabela 11 apresenta os coeficientes das variáveis independentes e seus respectivos valores-p obtidos a partir da análise de regressão para a concentração de carotenoides totais na torta de macaúba submetida ao processo de aquecimento em banho-maria. Foram consideradas duas variáveis principais: temperatura (X_1) e tempo (X_2), além de suas interações. Os coeficientes das variáveis indicam a magnitude e a direção do efeito de cada uma sobre a concentração de carotenoides totais, enquanto os valores-p são utilizados para determinar a significância estatística desses efeitos.

Tabela 11 - Coeficientes das variáveis e valores-p na análise de regressão para carotenoides totais da polpa de macaúba em banho-maria

Variáveis	Coeficiente	Valor p
Temperatura (X_1)	13,74	0,000**
Tempo (X_2)	4,95	0,000**
Interações		
X_1^2	4,31	0,013**
X_2^2	3,62	0,033**
$X_1 * X_2$	1,74	0,198

** Valores de $p < 0,05$ indicam significância estatística.

Após a exclusão das interações não significativas ao nível de 5%, foi possível obter o modelo final apresentado na Tabela 12.

Tabela 12 - Modelo final da análise de regressão com os coeficientes das variáveis e valores-p para carotenoides totais da polpa de macaúba em banho-maria

Variáveis	Coeficiente	Valor p
Temperatura (X_1)	13,74	0,000**
Tempo (X_2)	4,95	0,000**
Interações		
X_1^2	4,31	0,014**
X_2^2	3,62	0,035**

** Valores de $p < 0,05$ indicam significância estatística.

A partir das Análises de Variância (ANOVA), foi possível observar e determinar a significância dos efeitos das variáveis de temperatura (X_1) e tempo (X_2) e dos seus efeitos quadráticos (X_1^2 , X_2^2) na extração de carotenoides totais. O valor de R^2 obtido pelo modelo final foi de 90,76%, isso indica que mais de 90 % da variabilidade das respostas obtidas no conteúdo de carotenoides totais (CT) da polpa de macaúba, podem ser explicadas pelas variáveis independentes (temperatura e tempo) e suas interações presentes no modelo.

Também foi possível observar que o modelo construído foi significativo ($p < 0,05$), indicando que pelo menos um dos fatores estudados tem um efeito significativo na variável resposta. Quanto as variáveis estudadas, pode se observar que a temperatura apresentou um efeito significativo nas respostas obtidas ($p < 0,05$), assim como a variável tempo ($p < 0,05$). Ademais, as interações quadráticas (X_1^2 , X_2^2) também obtiveram resultados significativos ($p < 0,05$) (Tabela 11). Após a retirada da interação entre de (X_1) e (X_2), foi possível obter um modelo final que considerou apenas as variáveis significativas (Tabela 12).

O valor de R^2 referente ao modelo, reflete a importância das variáveis X_1 e X_2 na extração do composto de interesse. Tendo em vista, que essas variáveis foram escolhidas com base na literatura e testes prévios, era realmente esperado que essas obtivessem forte correlação com a resposta desejada nesse estudo.

Considerando o modelo, após a retirada das interações não significativas, obteve-se a seguinte Equação (2), com variáveis codificadas para a polpa da macaúba em banho-maria:

$$\text{CT Polpa} = 196,83 + 13,74 X_1 + 4,95 X_2 + 4,31 X_1^2 + 3,62 X_2^2 \quad (2)$$

A equação de regressão, pode ser interpretada tendo o valor de 196,83 como constante, o valor médio estimado para os carotenoides totais da polpa quando a temperatura (X_1) e o tempo (X_2) são zero. O coeficiente de temperatura (+13,74) indica que, mantendo o tempo constante, um aumento na temperatura estaria associado a um aumento médio de 13,74 unidades nos teores de carotenoides totais da polpa. Ou seja, a

cada incremento na temperatura eleva o valor dos carotenoides totais. O coeficiente de tempo (+4,95) sugere que, mantendo a temperatura constante, ocorre um aumento no tempo de extração, que está associado a um aumento de 4,95 unidades nos carotenoides totais.

O termo quadrático de temperatura ($+4,31 X_1^2$) indica que o efeito da temperatura na extração dos carotenoides não é linear. Deste modo, com o aumento da temperatura, o impacto na quantidade de carotenoides totais aumenta de forma quadrática, o que sugere um ponto ótimo de temperatura para otimizar a extração. O termo quadrático de tempo ($+3,62 X_2^2$) também possui efeito não linear. Esses termos quadráticos pertencem ao modelo de regressão final, assim demonstram que tanto a temperatura quanto o tempo possuem efeitos significativos e não lineares sobre a extração de carotenoides totais da polpa de macaúba.

A Figura 7 mostra graficamente os efeitos das variáveis significativas no modelo, assim é possível que com o aumento dessas, ocorre a elevação do conteúdo de carotenoides polpa da torta e quando alcançado o ponto máximo e ótimo de extração, pode se obter valores maiores que 220,00 $\mu\text{g/g}$ de carotenoides totais na polpa. Portanto, os resultados deste modelo indicam que tanto a temperatura quanto o tempo têm efeitos significativos no conteúdo de carotenoides totais extraídos (CT Polpa), sendo os parâmetros ótimos semelhantes os observados na torta.

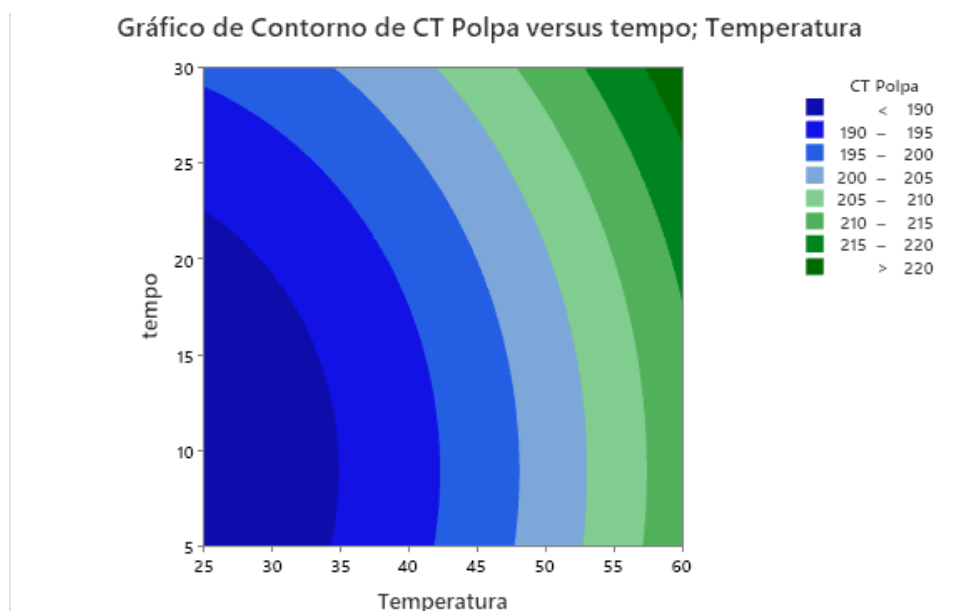


Figura 7- Gráfico de contorno do conteúdo de carotenoides totais ($\mu\text{g/g}$) em função do tempo (min) e da temperatura ($^{\circ}\text{C}$) da extração em banho-maria para a polpa de macaúba

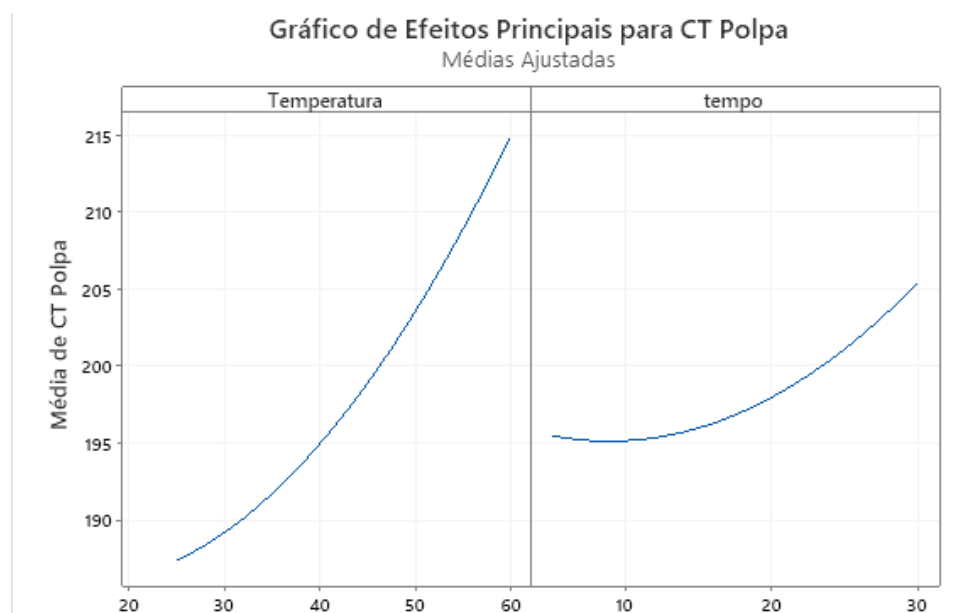


Figura 8 - Gráfico com os principais efeitos no tempo (min) e temperatura (°C) na extração de carotenoides totais (µg/g) da polpa de macaúba em banho-maria

Nos modelos apresentados para a polpa, a melhor extração ocorreu nos parâmetros mais elevados de tempo e temperatura. Cabe ressaltar que a temperatura de 60°C e o tempo de 30 minutos utilizados nesse estudo parecem ser adequados, pois não oferecem prejuízos a extração e são inferiores a outros métodos convencionais como a percolação e o Soxhlet, que podem atingir temperaturas de até 80 °C e levar a degradação de compostos termossensíveis (Jha; Sit, 2022). Além disso, a polpa é uma matéria-prima rica em lipídios (59,57 %), portanto, o uso de calor pode ser uma alternativa vantajosa, capaz de romper a parede celular e quebrar ligações entre as moléculas de lipídios, resultando em uma maior liberação dos carotenoides para o meio (More; Jambrak; Arya, 2022).

5.2.2.2 Extração de carotenoides da torta de macaúba

Os experimentos em banho-maria totalizaram 28 ensaios para a torta, com replicatas nos pontos axiais e no ponto central (Tabela 13).

Tabela 13 - Delineamento proposto para a extração em banho-maria e resultados obtidos na extração de carotenoides totais da torta da macaúba

Experimentos	Temperatura (C°)	Tempo(min)	C.T Torta (µg/g)
1	42,5	17,5	102,55
2	42,5	17,5	103,01
3	42,5	17,5	102,55
4	25	30	98,15
5	60	30	103,70
6	60	5	98,84
7	25	5	90,28
8	25	5	90,28

Tabela 13 – Continuação: Delineamento proposto para a extração em banho-maria e resultados obtidos na extração de carotenoides totais da torta da macaúba

Experimentos	Temperatura (C°)	Tempo(min)	C.T Torta (µg/g)
9	42,5	17,5	92,59
10	42,5	17,5	92,59
11	25	30	100,69
12	42,5	17,5	99,54
13	60	30	106,94
14	60	5	99,31
15	42,5	17,5	102,55
16	42,5	17,5	92,59
17	42,5	30	103,01
18	42,5	17,5	102,55
19	42,5	17,5	103,24
20	42,5	30	102,78
21	25	17,5	97,69
22	25	17,5	97,92
23	42,5	5	99,31
24	60	17,5	104,86
25	42,5	17,5	101,85
26	42,5	5	98,84
27	42,5	17,5	103,01
28	60	17,5	104,17

Legenda: CT: Carotenoides Totais (µg/g)

Observa-se que a temperatura de 60 °C, independentemente do tempo de extração, resultou em maiores concentrações de carotenoides totais, alcançando um valor máximo de 106,94 µg/g de carotenoides totais para a torta de macaúba. Em temperaturas mais baixas, como 25 °C, as concentrações de carotenoides foram menores, com um valor mínimo de 90,28 µg/g. O tempo de extração também parece influenciar nos resultados, visto que as amostras extraídas por 30 minutos apresentaram concentrações mais elevadas, quando comparadas às extrações mais curtas de 5 minutos.

Foi possível observar que o modelo construído foi significativo ($p < 0,05$), indicando que pelo menos um dos fatores estudados tem um efeito significativo na variável resposta. Quanto as variáveis estudadas, pode se observar que a temperatura apresentou um efeito significativo ($p < 0,05$), assim como a variável tempo ($p < 0,05$). Ademais, as interações não obtiveram resultados significativos ($p > 0,05$) (Tabela 14).

Tabela 14 - Coeficientes das variáveis e valores-p na análise de regressão para carotenoides totais da torta de macaúba em banho-maria

Variáveis	Coeficiente	Valor p
Temperatura (X_1)	3,567	0,001**
Tempo (X_2)	3,201	0,003**
Interações		
X_1^2	-0,00	0,998
X_2^2	-0,18	0,901
$X_1 * X_2$	-0,72	0,541

** Valores de $p < 0,05$ indicam significância estatística.

Após a retirada das interações não significativas ao nível de 5%, o modelo permaneceu com as variáveis de tempo e temperatura significativas ($p < 0,05$) (Tabela 15).

Tabela 15 – Modelo final da análise de regressão com os coeficientes das variáveis e valores-p para carotenoides totais da torta de macaúba em banho-maria

Variáveis	Coeficiente	Valor p
Temperatura (X_1)	3,567	0,001**
Tempo (X_2)	3,201	0,002**

** Valores de $p < 0,05$ indicam significância estatística.

Os resultados demonstram que tanto o tempo quanto a temperatura são importantes para a extração, fato que pode ser justificado, pois o tempo inadequado pode comprometer a quantidade de carotenoides extraídos da matriz celular, resultando em uma extração incompleta ou ineficiente. Prolongar esse fator, também pode levar a degradação dos carotenoides, visto que são compostos sensíveis à luz e ao oxigênio, e prolongar o tempo do processo, pode também levar a exposição a essas condições. No entanto, é importante a realização de estudos prévios, a fim de destinar o melhor delineamento para a matéria-prima de interesse (Sharma, I., Khare, N., & Rai, 2024).

A partir das Análises de Variância (ANOVA) foi possível observar e determinar a significância dos efeitos das variáveis de temperatura (X_1), tempo (X_2) e os fatores (X_1^2 , X_2^2 e $X_1 * X_2$) na extração de carotenoides totais. O valor de R^2 obtido pelo modelo final foi de 57,55%. Isso indica que aproximadamente 57,55% da variação das respostas observadas no conteúdo de carotenoides totais (CT) da torta de macaúba podem ser explicadas pelas variáveis independentes (temperatura e tempo), presentes no modelo.

Este valor de R^2 pode ser justificado por fatores não incluídos no modelo, mas que podem influenciar nos carotenoides totais. Dentre esses fatores, podem ser mencionados, as diferenças na composição de porções da mesma matéria-prima, intensidade de agitação ou agitação não homogênea nos pontos do banho-maria, entre outros, que podem ter contribuído para os resultados obtidos (Amorim-Carrilho *et al.*, 2014; Saini e Keum, 2018; Kiruthika e Shivaswamy, 2024).

Considerando o modelo, após a retirada das interações não significativas, obteve-se a seguinte Equação (3), com variáveis codificadas para a torta da macaúba em banho-maria:

$$\text{CT Torta} = 99,835 + 3,567 X_1 + 3,201 X_2 \quad (3)$$

A partir da equação obtida para o modelo, tem-se que 99,835 é a constante, que representa a média da resposta de carotenoides totais da torta de macaúba. O coeficiente 3,567 refere-se a temperatura (X_1) e indica que ao manter as demais variáveis constantes, um aumento na temperatura está associado a um aumento de 3,567 unidades ao resultado. O coeficiente de tempo (X_2) corresponde ao valor de 3,201, deste modo, ao manter as demais variáveis constantes, um aumento no tempo de extração está associado a um aumento de 3,201 unidades no resultado.

A Figura 9 demonstra visualmente os efeitos das variáveis independentes no modelo, no qual pode ser observado que com o aumento dessas, ocorre a elevação do conteúdo de carotenoides totais da torta e quando alcançado o ponto máximo e ótimo de extração, pode se obter valores maiores que 105 µg/g de carotenoides totais.

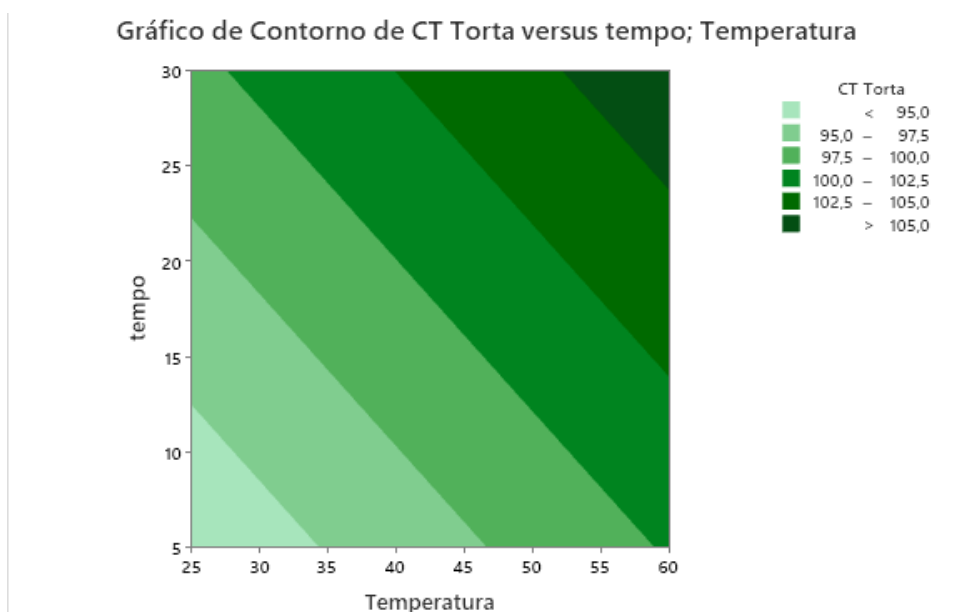


Figura 9 - Gráfico de contorno do conteúdo de carotenoides totais (µg/g) em função do tempo (min) e da temperatura (°C) da extração em banho-maria para a torta de macaúba

Os resultados deste modelo indicam que tanto a temperatura quanto o tempo têm efeitos significativos no conteúdo de carotenoides totais extraídos (CT Torta), sendo os parâmetros máximos (60°C-30 min) os ótimos de extração (Figura 10). O modelo de

regressão é significativo e não apresenta falta de ajuste, o que sugere uma boa descrição entre as variáveis preditoras (temperatura e tempo) e a variável resposta obtida.

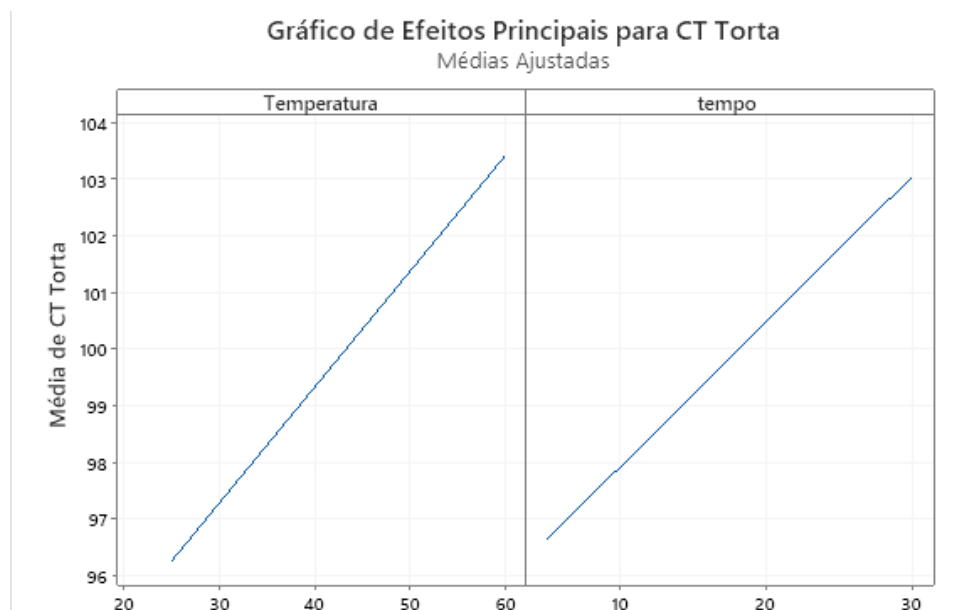


Figura 10 - Gráfico com os principais efeitos no tempo (min) e temperatura (°C) na extração de carotenoides totais (µg/g) da torta de macaúba em banho-maria

Deste modo, pode-se concluir que o aumento da temperatura possui maior impacto na extração de carotenoides da torta, o que é esperado, pois o aumento nos parâmetros dessa variável, pode auxiliar na melhora da solubilidade dos carotenoides no solvente utilizado. Além disso, as maiores temperaturas tendem a promover uma rápida difusão dos carotenoides presentes nas células vegetais para o solvente, o que leva a um procedimento mais eficiente. No entanto, é importante ter cautela, pois temperaturas acima de 50 causar degradação térmica dos carotenoides, especialmente os mais sensíveis, como o β -caroteno (Kiruthika; Shivaswamy, 2024).

Durante o processo de extração, o tempo também mostrou um efeito positivo, porém menor, comparado a temperatura. Um tempo de extração mais longo permite uma maior interação entre o solvente e a matriz vegetal, o que pode aumentar a extração de carotenoides. Contudo, o tempo ideal precisa ser equilibrado, já que tempos muito longos podem resultar na oxidação ou degradação dos carotenoides ou em custos de processo mais elevados. Deste modo, o tempo inadequado pode comprometer a quantidade de carotenoides extraídos da matriz celular, resultando em uma extração incompleta ou ineficiente. Prolongar esse fator, também pode levar a degradação dos carotenoides, visto que são compostas sensíveis à luz e ao oxigênio, e prolongar o tempo do processo, pode também levar a exposição a essas condições (Sharma, I., Khare, N., & Rai, 2024).

5.2.3. Extração II (Efeito do Ultrassom)

5.2.3.1 Extração de carotenoides da polpa de macaúba

Os experimentos em ultrassom totalizaram 32 ensaios, sendo 16 para a polpa, como apresentado na Tabela 16.

Tabela 16 - Delineamento proposto para a extração em ultrassom e resultados obtidos na extração de carotenoides totais da polpa da macaúba

Experimentos (n°)	Temperatura (°C)	Frequência (kHz)	Tempo (min)	C.T Polpa (µg/g)
1	25	45	5	214,58
2	25	45	30	220,14
3	60	25	30	237,85
4	60	25	5	232,29
5	60	45	30	247,22
6	60	45	5	245,83
7	25	25	5	202,08
8	25	25	30	236,11
9	60	45	5	242,36
10	60	45	30	246,53
11	25	45	5	213,54
12	25	45	30	218,40
13	60	25	5	228,13
14	60	25	30	219,10
15	25	25	30	203,13
16	25	25	5	200,69

Legenda: CT: Carotenoides Totais (µg/g).

Os resultados apresentados indicam que as condições mais elevadas de temperatura (60°C) e frequência, quando combinadas com um maior tempo de extração, são as mais eficientes e apresentam valores entre 219,10 µg/g e 247,22 µg/g de carotenoides totais da polpa de macaúba. Além disso, mesmo com tempos mais curtos (5 minutos), maiores temperaturas e frequências podem proporcionar boas extrações (experimentos 8 e 16), o que sugere a possibilidade de otimização do processo para reduzir o tempo sem comprometer a eficiência da extração.

Nas análises de variância, realizadas com base nos resultados obtidos pelos extratos da polpa em ultrassom, foi possível verificar as interações presentes no modelo associados a extração de carotenoides totais. O valor de R^2 obtido pelo modelo final foi de 91,68%, isso indica que aproximadamente 91,68% da variabilidade das respostas obtidas no conteúdo de carotenoides totais (CT) da polpa de macaúba, podem ser

explicadas pelas variáveis independentes (temperatura e frequência), não havendo interações neste modelo.

Nos resultados obtidos, a temperatura apresentou um efeito estatisticamente significativo na extração dos carotenoides da polpa ($p < 0,05$), assim o aumento da temperatura estaria fortemente associado a maiores valores na resposta obtida pelo modelo. A frequência, demonstrou um efeito marginalmente significativo ($p=0,055$), assim essa variável pode ter influência sobre as respostas obtidas (Tabela 17).

Tabela 17 - Coeficientes das variáveis e valores-p na análise de variância multifatorial para carotenoides totais da polpa de macaúba em ultrassom.

Variáveis	Coeficiente	Valor p
Temperatura (X_1)	11,91	0,005**
Frequência (X_3)	5,58	0,055

** Valores de $p < 0,05$ indicam significância estatística.

A partir das análises realizadas, foi possível obter uma equação de regressão para o método de extração da polpa em ultrassom, utilizando variáveis codificadas, conforme demonstrado na Equação 4:

$$CT\ Polpa = 225,50 + 11,91 \times X_1 + 5,58 \times X_3 \quad (4)$$

A equação de regressão fornece a relação entre a concentração de carotenoides totais da polpa e as variáveis independentes presentes no modelo (X_1 e X_3). Deste modo, 225,50 é o intercepto da equação de regressão, ele indica qual o valor esperado da resposta caso as variáveis independentes sejam zero. O coeficiente 11,91 acompanhado da variável X_1 indica que caso ocorra o seu aumento e a outra variável não se altere, a concentração de carotenoides aumenta em 11,91 $\mu\text{g/g}$. Enquanto, o coeficiente 5,58 junto a X_3 demonstra que um aumento de uma unidade nessa variável, pode contribuir para o incremento de 5,58 $\mu\text{g/g}$ unidades na concentração de carotenoides. Além disso, considerando que o coeficiente X_1 é maior que X_3 , nota-se um impacto maior da temperatura neste modelo, o que pode ser confirmado, tendo em vista que nas análises realizadas a frequência foi marginalmente significativa.

A Figura 11 demonstra os efeitos das variáveis significativas do modelo ajustado, assim é possível visualizar que ocorre a elevação do conteúdo de carotenoides da polpa (área mais escura do gráfico), quando os parâmetros alcançam o máximo estipulado (60° -45 kHz), onde é possível observar valores $>240,00 \mu\text{g/g}$ de carotenoides totais na polpa.

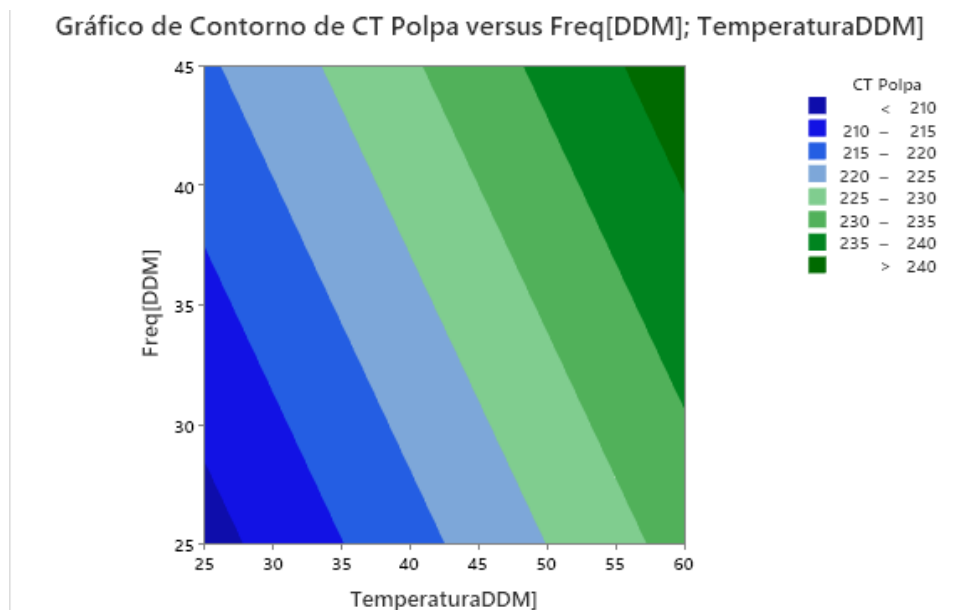


Figura 11 - Gráfico de contorno do conteúdo de carotenoides totais ($\mu\text{g/g}$) em função da frequência (kHz) e da temperatura ($^{\circ}\text{C}$) na extração em ultrassom para a polpa de macaúba

Portanto, os resultados deste modelo indicam que a otimização da resposta ocorre quando os pontos máximos das variáveis X_1 e X_3 são atingidos, o que resulta no aumento significativo do conteúdo de carotenoides totais extraídos (CT Polpa) (Figura 12).

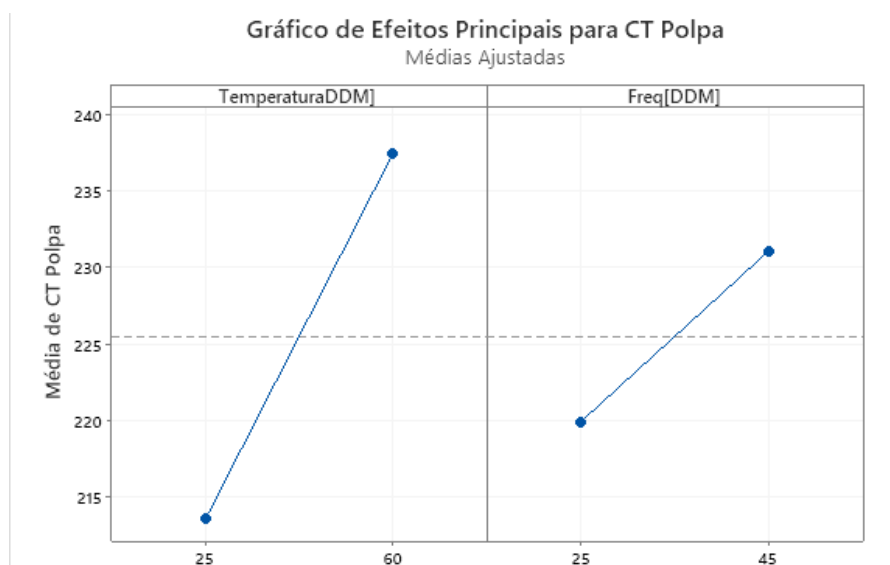


Figura 12 - Gráfico com os principais efeitos na temperatura ($^{\circ}\text{C}$) e frequência (kHz) na extração de carotenoides totais ($\mu\text{g/g}$) da polpa de macaúba em ultrassom

A partir dos modelos obtidos para a polpa, nota-se interferências significativas principalmente relacionadas as variáveis, tempo e temperatura nos modelos. No estudo de Chutia e Mahanta (2021), foi realizada a otimização da extração de carotenoides da casca do maracujá por ultrassom e utilizando como solventes óleos vegetais, como azeite de oliva e óleo de girassol. Os autores utilizaram como parâmetros 30; 45 e 60 $^{\circ}\text{C}$, tempo

de 10; 30 e 50 minutos, não foi utilizada frequência sendo mantida a potência em 400 W. Como resultados, os tempos de 40 e 50 minutos, contribuíram para maximizar a extração de carotenoides, enquanto a temperatura até 50 ° C parece se destacar.

Essa tendência pode ser explicada pela redução da viscosidade do óleo, conforme o aumento da temperatura, o que contribui para a fluidez e facilita a passagem do solvente pela matriz, aumentando a difusão dos compostos lipofílicos. Porém, temperaturas superiores a 50°C podem resultar na agregação de impurezas aos compostos extraídos e facilitar a decomposição de alguns constituintes (Hlaváč; Božiková; Petrović, 2019).

Outro estudo de otimização foi o proposto por Coelho *et al.*(2022), tendo como objetivo comparar um método convencional com a extração assistida por ultrassom para se obter carotenoides do caju. Deste modo, os autores encontraram como condições ótimas do experimento: solventes em proporção 38% de acetona, 30% de etanol e 32% de éter de petróleo para o tratamento convencional e uma mistura de 44% de acetona e 56% de metanol para o ensaio em ultrassom. No equipamento as condições eram fixas, sendo de 40 kHz de frequência e potência de 80 W, o que resultou em condições ótimas de tempo de sonicação em 19 minutos e uma massa de amostra de 153 mg, enquanto no tratamento convencional foi de 23 minutos e 136 mg. Estes resultados demonstram que o uso de tecnologias não convencionais e ajustes metodológicos para os processos de extração de compostos bioativos podem ser uma alternativa viável, com potencial de ultrapassar até mesmo o rendimento obtido por metodologias convencionais.

5.2.3.2 Extração de carotenoides da torta de macaúba

Os experimentos em ultrassom totalizaram 32 ensaios, sendo 16 deles para a torta, como apresentado na Tabela 18.

Tabela 18 - Delineamento proposto para a extração em ultrassom e resultados obtidos na extração de carotenoides totais da torta da macaúba

Experimentos (nº)	Temperatura (°C)	Frequência (kHz)	Tempo (min)	C.T Torta (µg/g)
1	25	45	5	104,17
2	25	45	30	109,26
3	60	25	30	118,52
4	60	25	5	117,36
5	60	45	30	123,84
6	60	45	5	118,75
7	25	25	5	92,59
8	25	25	30	103,70

Tabela 18 – Continuação: Delineamento proposto para a extração em ultrassom e resultados obtidos na extração de carotenoides totais da torta da macaúba

Experimentos (n°)	Temperatura (°C)	Frequência (kHz)	Tempo (min)	C.T Torta (µg/g)
9	60	45	5	119,91
10	60	45	30	123,38
11	25	45	5	108,80
12	25	45	30	110,19
13	60	25	5	117,59
14	60	25	30	119,21
15	25	25	30	103,94
16	25	25	5	92,48

Legenda: CT: Carotenoides Totais (µg/g)

As combinações que apresentam alta temperatura (60 °C), elevada frequência (45 kHz) e tempo de extração prolongado (30 minutos), são condições ótimas para a extração de carotenoides totais da torta da macaúba (ensaios 5 e 10). Enquanto as condições em que prevalecem as baixas temperaturas e menores frequências, resultam em menores concentrações de carotenoides (ensaios 7 e 16).

O presente estudo, também buscou otimizar as condições observadas ao propor a execução de novos ensaios utilizando o ultrassom. Assim, foi proposto continuar com os tempos avaliados previamente em banho-maria e em ensaios de teste no banho ultrassônico. Deste modo, foi possível obter modelos para a polpa e torta, considerando as variáveis de temperatura (X_1), tempo (X_2) e frequência (X_3).

As análises de variância multifatorial (ANOVA) demonstram a significância das variáveis avaliadas, bem como a interação presente no modelo associados a extração de carotenoides totais. O valor de R^2 obtido pelo modelo final foi de 99,65%, isso indica que aproximadamente 99,65% da variabilidade das respostas obtidas no conteúdo de carotenoides totais (CT) da torta de macaúba, podem ser explicadas pelas variáveis independentes (temperatura, tempo e frequência) e a interação dentro do modelo. Nos resultados obtidos, a temperatura apresentou efeito positivo e significativo na extração dos carotenoides ($p < 0,05$), assim o aumento da temperatura estaria fortemente associado a maiores valores na resposta obtida pelo modelo. A frequência e o tempo também apresentaram efeitos significativos ($p < 0,05$). A interação $X_1 * X_3$, é significativa ($p < 0,05$), porém, contribui com efeitos negativos para a extração (Tabela 19).

Tabela 19 - Coeficientes das variáveis e valores-p na análise de variância multifatorial para carotenoides totais da torta de macaúba em ultrassom

Variáveis	Coeficiente	Valor p
Temperatura (X_1)	8,339	0,000**
Tempo (X_2)	2,524	0,011**
Frequência (X_3)	3,307	0,002**
Interação		
$X_1 * X_3$	-1,657	0,013**

** Valores de $p < 0,05$ indicam significância estatística.

O valor de R^2 observado para esse modelo reflete o impacto significativo de cada variável escolhida para compor os ensaios. Além disso, a escolha do equipamento e de parâmetros bem delineados influencia positivamente nos resultados. Visto que o uso do ultrassom aumentou significativamente a extração de carotenoides, isso pode ser justificado pelo seu mecanismo, no qual as ondas sonoras transmitidas pela matriz causam efeitos de compressão e expansão, fenômeno denominado cavitação. Esse fenômeno está fortemente associado à produção de energia, que é transformada em calor. A partir dessa energia, ocorre a lise dos tecidos vegetais, o que leva a uma maior liberação de compostos bioativos que estavam presos na matriz celular vegetal (Chemat *et al.*, 2019; More; Jambrak; Arya, 2022).

A extração assistida por ultrassom (EAU) é um método que se destaca por proporcionar alta reprodutibilidade, menor tempo de extração e menor consumo de solvente. Além disso, deve-se considerar que a quebra das partículas pode melhorar a homogeneidade dos grânulos presentes no sistema e a energia a ser distribuída por ele, resultando em uma extração mais uniforme (Ordóñez-Santos; Esparza-Estrada; Vanegas-Mahecha, 2021; Silva *et al.*, 2022).

Considerando o modelo, após a retirada dos fatores não significativos, obteve-se a Equação (5), com variáveis codificadas para a extração de carotenoides totais da torta da macaúba como uso de ultrassom:

$$\text{CT Torta} = 111,481 + 8,339 X_1 + 3,307 X_3 - 1,659 X_1 * X_3 + 2,524 X_2 \quad (5)$$

A equação obtida pode ser interpretada da seguinte forma, tem-se que 111,481 é a quantidade média estimada de carotenoides totais, quando as variáveis independentes (X_1 , X_2 e X_3) são iguais a zero. O coeficiente de temperatura (8,339), apresentou efeito positivo na extração de carotenoides, assim, para cada unidade adicionada na temperatura, mantendo as demais variáveis constantes, espera-se que ocorra um incremento de 8,339 unidades no resultado. Se a frequência (X_3), sofrer o adicional de uma unidade e as demais variáveis não sofrerem alterações, os CT vão aumentar. Considerando a interação X_1 , e

X_3 tem-se que ao aumentar simultaneamente esses componentes, a quantidade de carotenoides pode diminuir (-1,659), quando comparado aos efeitos observados dessas variáveis individualmente. Ao final da equação, o coeficiente de tempo (X_2) demonstra que para cada unidade adicional de tempo, mantendo as outras variáveis constantes, a quantidade de carotenoides tende a aumentar em 2,524 unidades. Deste modo, é possível observar o efeito positivo de X_2 , porém, menor quando comparado a X_1 , X_3 durante a extração.

A Figura 13 demonstra os efeitos da interação das variáveis independentes do modelo, assim é possível visualizar que ocorre a elevação do conteúdo de carotenoides da torta (área mais escura do gráfico), quando os parâmetros alcançam o máximo estipulado (60°-45 kHz), onde é possível observar valores >120,00 µg/g de carotenoides totais na torta.

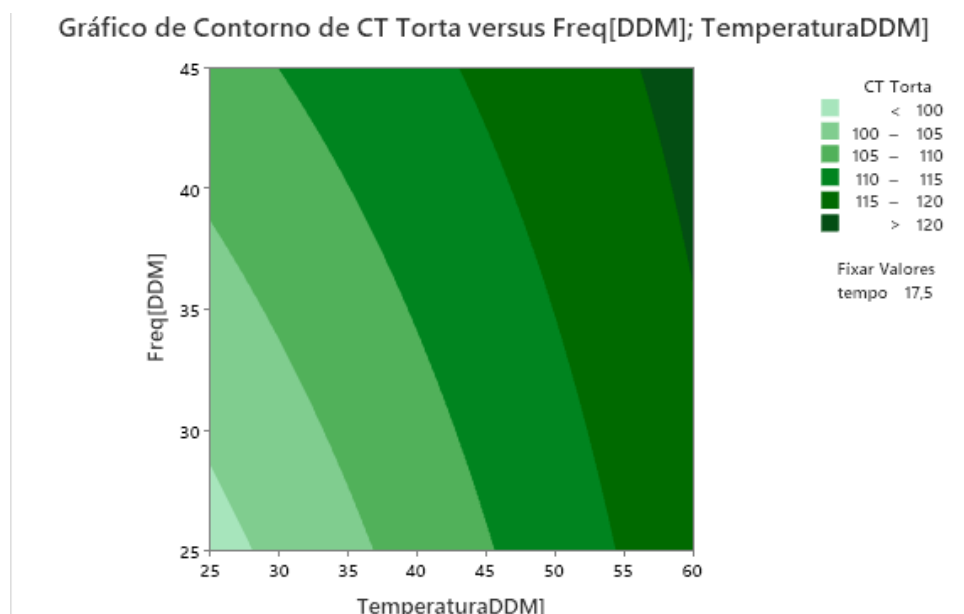


Figura 13. Gráfico de contorno do conteúdo de carotenoides totais (µg/g) em função da frequência (kHz) e da temperatura (°C) na extração em ultrassom para a torta de macaúba

Os resultados deste modelo indicam que a otimização da resposta do modelo ocorre quando os pontos máximos são atingidos nas variáveis X_1 , X_2 e X_3 , o que resulta no aumento significativo do conteúdo de carotenoides totais extraídos (CT torta) (Figura 14).

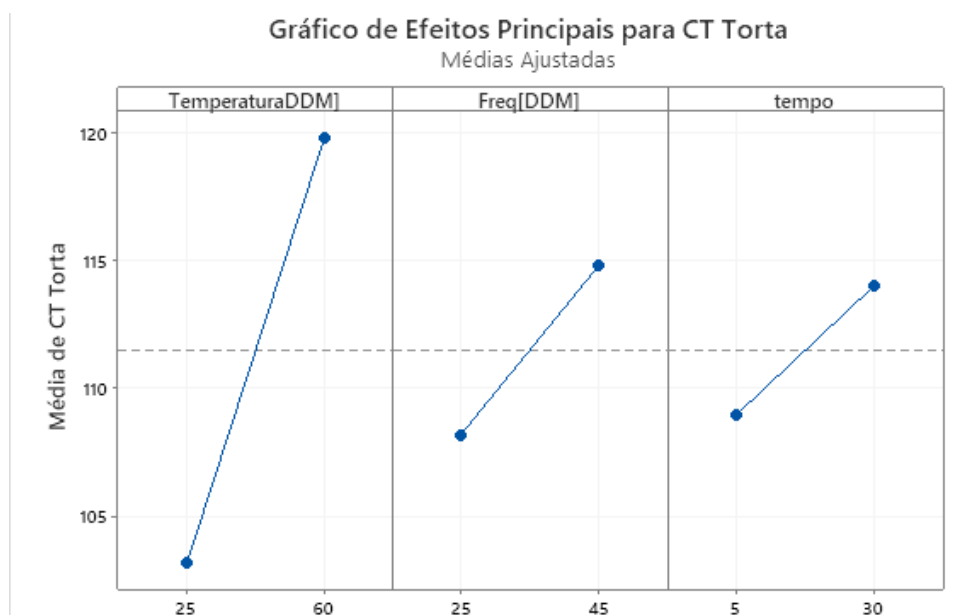


Figura 14. Gráfico com os principais efeitos na temperatura (C°), frequência (kHz) tempo (min) na extração de carotenoides totais (µg/g) da torta de macaúba em ultrassom

A partir do gráfico, é possível observar que a temperatura é a variável que parece exercer maior impacto na extração de carotenoides totais da torta de macaúba, seguida pela frequência e pelo tempo. Esses resultados refletem o papel de cada uma das variáveis no modelo, ajudando a identificar quais os fatores devem ser priorizados para otimizar a concentração de carotenoides totais no processo de aquecimento em ultrassom. Durante o tratamento ultrassônico, as ondas sonoras se propagam e criam ciclos alternados de ondas de alta e baixa pressão, esse fenômeno é denominado cavitação. Esse processo permite a mistura do solvente com as partículas de amostra sólidas. Além disso, as bolhas formadas durante a cavitação, geram colisão com as partículas, o que resulta em difusão e rompimento da parede celular, que contribui para a difusão dos compostos para o solvente (Chutia; Mahanta, 2021).

No estudo de Goula *et al.* (2017) foi realizada a otimização da extração de carotenoides da casca de romã, utilizando óleo de girassol e ultrassom. Como resultado, foi obtida a extração de 93,8% dos carotenoides totais presentes no resíduo. O tempo de extração mais eficiente foi de 30 minutos, o que se assemelha ao observado na extração de carotenoides da torta de macaúba. Além disso, o rendimento da extração encontrado pelos autores, aumentou com a elevação da temperatura de 20 para 40°C, atingindo um rendimento ótimo de extração 0,3255 mg de carotenoides/100 g de cascas secas.

5.3 Comparação dos métodos aplicados

A fim de verificar os valores obtidos e validá-los, os parâmetros otimizados de cada experimento foram repetidos em triplicata e realizada a média dos valores. Deste modo, a otimização da extração de carotenoides totais em banho-maria foi realizada utilizando a temperatura de 60°C por 30 minutos (condição ótima estabelecida), na qual foi possível obter um valor de $219,33 \pm 1,00 \mu\text{g/g}$. Enquanto no ultrassom, utilizando as condições otimizadas de 60°C, por 30 minutos em uma frequência de 45 kHz, observou-se o aumento da extração, chegando a $277,55 \pm 0,40 \mu\text{g/g}$. A mesma matéria-prima também teve a extração avaliada pelo método convencional, no qual obteve-se a maior média de extração $369,21 \pm 1,00 (\mu\text{g/g})$.

Na torta, o uso do banho-maria resultou em uma média de carotenoides totais de $106,33 \pm 0,27 \mu\text{g/g}$, mostrando uma eficiência significativamente menor, quando comparado ao ultrassom, no qual obteve-se uma média de $124,23 \pm 0,66 \mu\text{g/g}$. Os valores médios de carotenoides na torta de macaúba foram significativamente diferentes entre os métodos testados, sendo que o método convencional apresentou a maior média ($210,96 \pm 4,54 \mu\text{g/g}$), significativamente superior aos outros métodos.

Os resultados obtidos indicam a maior eficiência do método convencional para a extração de carotenoides da polpa e torta de macaúba. No entanto, cabe ressaltar que os demais métodos utilizados alcançaram mais de 50% do valor de extração, considerando o método convencional como referência. Neste sentido, pode-se destacar o resultado obtido na extração realizada por ultrassom para a polpa e torta, nas quais obteve-se cerca de 75,2% e 59,4% de extração de carotenoides totais, comparado a extração com acetona.

Esses resultados são relevantes, pois, na otimização dos processos de extração, podem ser consideradas diversas variáveis e combinações de solventes em série. Embora a extração por ultrassom não tenha se equiparado aos valores obtidos pelo método convencional, é importante mencionar que os resultados podem ser vantajosos tendo em vista a utilização de um solvente GRAS, menor consumo de solventes, e a possível aplicação dos extratos em alimentos. Além disso, há o benefício da recuperação sustentável dos resíduos e a possibilidade de expandir os métodos para a produção de extratos, com a extração diferenciada pelo uso de solventes GRAS.

6. CONCLUSÃO

Os carotenoides presentes na polpa e na torta de macaúba foram extraídos de forma eficaz pelo acetato de etila, um solvente GRAS, e pelos métodos de otimização sugeridos no estudo, com destaque para o calor, como um fator importante no processo de extração. O aumento da temperatura até 60 °C foi importante para otimizar a extração de carotenoides da polpa e torta da macaúba. Além disso, o uso do ultrassom foi essencial para aumentar a extração, mesmo operando em temperaturas mais baixas. Os resultados indicam que tecnologias não convencionais, como o ultrassom, podem melhorar a extração de carotenoides de maneira sustentável. Quando combinados com um solvente GRAS, essas tecnologias apresentam potencial interessante, com o objetivo de realizar a extração de carotenoides e aplicá-los como corantes naturais e antioxidantes (suplementos alimentares).

Adicionalmente, o estudo destaca a macaúba como uma fonte promissora a ser explorada para a extração de compostos bioativos, o que pode contribuir para a valorização, dessa palmácea e para a geração de renda dos seus produtores. Dentre as perspectivas futuras, pode-se mencionar o aproveitamento dos resíduos da extração pela indústria como fonte de fibras alimentares, que podem ser adicionadas na alimentação humana e animal, contribuindo com benefícios para a saúde e sustentabilidade ambiental, por meio do aproveitamento integral dos resíduos obtidos durante o processo.

7. REFERÊNCIAS

AOAC. Official methods of analysis of AOAC International. Gaithersburg, MD: AOAC International, 2019.

AMORIM-CARRILHO, K. T.; CEPEDA, A.; FENTE, C.; REGAL, P. Review of methods for analysis of carotenoids. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 56, p. 49–73, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.trac.2013.12.011>>.

ANDRADE, A. C.; MARINHO, J. F. U.; DE SOUZA, A. C.; DE SOUSA TAVARES, T.; DIAS, D. R.; SCHWAN, R. F.; NUNES, C. A.; BASTOS, S. C. Prebiotic potential of pulp and kernel cake from Jerivá (*Syagrus romanzoffiana*) and Macaúba palm fruits (*Acrocomia aculeata*). **Food Research International**, v. 136, 1 out. 2020.

AOQUI, Marcio. Caracterização do óleo da polpa de macaúba (*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. ex Mart.) e azeite de oliva (*Olea europaea* L.) virgem extra e seus efeitos sobre dislipidemia e outros parâmetros sanguíneos, tecido hepático e mutagênese em ratos wistar. 2012. Tese de Doutorado. Universidade Católica Dom Bosco.

BONET, S. R.; AGUILERA, L. C.; VILLALBA, J. B.; VILLALBA, D.; ROTELA, L. A.; FRANCO, R. B. Caracterización físicoquímica de la pulpa y almendra de *Acrocomia aculeata* Physicochemical characterization of the pulp and kernel of *Acrocomia*. v. 22, n. 1, p. 46–52, 2020.

CANGUSSU, L. B.; FRONZA, P.; CAVALCANTI, W. M. Pós ricos em fibras oriundos de subprodutos de resíduos de frutos tropicais: um levantamento bibliográfico sobre seus compostos bioativos. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 9, p. e80996803, 2020.

CARGNIN, A.; JUNQUEIRA, N. T. V.; FOÇAÇA, C. M. .; COSTA, C. J. .; AGUIAR, J. L. P. Potencial da macaubeira como fonte de matéria prima para produção de biodiesel. **Embrapa Cerrados**, p. 1–7, 2008. Disponível em: <http://bbeletronica.cpac.embrapa.br/2008/doc/doc_217.pdf>.

CHEMAT, F.; VIAN, M. A.; RAVI, H. K.; KHADHRAOUI, B.; HILALI, S.; PERINO, S.; TIXIER, A. F. Review of Alternative Solvents for Green Extraction of Food and Natural Products : Panorama , Principles ,. 2019.

CHUTIA, H.; MAHANTA, C. L. Green ultrasound and microwave extraction of carotenoids from passion fruit peel using vegetable oils as a solvent: Optimization, comparison, kinetics, and thermodynamic studies. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 67, n. October 2020, p. 102547, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102547>>.

CICONINI, G.; FAVARO, S. P.; ROSCOE, R.; MIRANDA, C. H. B.; TAPETI, C. F.; MIYAHIRA, M. A. M.; BEARARI, L.; GALVANI, F.; BORSATO, A. V.; COLNAGO, L. A.; NAKA, M. H. Biometry and oil contents of *Acrocomia aculeata* fruits from the Cerrados and Pantanal biomes in Mato Grosso do Sul, Brazil. **Industrial Crops and Products**, v. 45, p. 208–214, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.12.008>>.

COELHO, T. L. S.; SILVA, D. S. N.; DOS SANTOS JUNIOR, J. M.; DANTAS, C.; NOGUEIRA, A. R. de A.; LOPES JUNIOR, C. A.; VIEIRA, E. C. Multivariate optimization and comparison between conventional extraction (CE) and ultrasonic-assisted extraction (UAE) of carotenoid extraction from cashew apple. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 84, n. March, p. 105980, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2022.105980>>.

COIMBRA, M. C.; JORGE, N. Proximate composition of guariroba (*Syagrus oleracea*), jerivá (*Syagrus romanzoffiana*) and macaúba (*Acrocomia aculeata*) palm fruits. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 2139–2142, 2011.

COSTA, J. M. C.; OLIVEIRA, D. M.; COSTA, L. E. C. Macauba Palm— *Acrocomia aculeata*. In: **Exotic Fruits**. [s.l.] Elsevier, 2018. p. 297–304.

DA COSTA LIMA PIRES, P.; DA SILVA CÉSAR, A.; CARDOSO, A. N.; FAVARO, S. P.; CONEJERO, M. A. Strategies to improve the competitiveness of an agroindustrial system for a macauba based oil production in Minas Gerais State, Brazil. **Land Use Policy**, v. 126, n. October 2020, 2023.

DE ASSIS, R. C.; DE LIMA GOMES SOARES, R.; SIQUEIRA, A. C. P.; DE ROSSO, V. V.; DE SOUSA, P. H. M.; MENDES, A. E. P.; DE ALENCAR COSTA, E.; DE GÓES CARNEIRO, A. P.; MAIA, C. S. C. Determination of water-soluble vitamins and carotenoids in Brazilian tropical fruits by High Performance Liquid Chromatography. **Heliyon**, v. 6, n. 10, 2020.

DE SOUZA, F. G.; DE ARAÚJO, F. F.; DE PAULO FARIAS, D.; ZANOTTO, A. W.; NERI-NUMA, I. A.; PASTORE, G. M. Brazilian fruits of Arecaceae family: An overview of some representatives with promising food, therapeutic and industrial applications. **Food Research International**, v. 138, n. September, 2020.

DELIA B. RODRIGUEZ-AMAYA. **A guide to carotenoid analysis in foods**. [s.l.: s.n.]v. 10.

DIAS, E. F.; HAUSCHILD, L.; MOREIRA, V. E.; CAETANO, R. P.; VEIRA, A. M.; LOPES, M. S.; GUIMARÃES, S. E. F.; BASTIAANSEN, J.; CAMPOS, P. H. R. F. Macauba (*Acrocomia aculeata*) pulp meal as alternative raw material for growing-pigs. **Livestock Science**, v. 252, 1 out. 2021.

DIAS, M.; CALEJA, C.; PEREIRA, C.; CALHELHA, R. C.; KOSTIC, M.; SOKOVIC, M.; TAVARES, D.; BARALDI, I. J.; BARROS, L.; FERREIRA, I. C. F. R. Chemical composition and bioactive properties of byproducts from two different kiwi varieties. **Food Research International**, v. 127, n. July 2019, p. 108753, jan. 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108753>>.

EMBRAPA. Caracterização de populações naturais de macaúba e avaliação do potencial produtivo. In: [s.l.: s.n.]

FARIA, J. P.; ALMEIDA, F.; SILVA, L. C. R. da; VIEIRA, R. F.; AGOSTINI-COSTA, T. D. S. Caracterização da polpa do coquinho-azedo (*Butia capitata* var *capitata*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 3, p. 827–829, set. 2008.

FERNÁNDEZ-COPPEL, I. A.; BARBOSA-EVARISTO, A.; CORRÊA-GUIMARÃES, A.; MARTÍN-GIL, J.; NAVAS-GRACIA, L. M.; MARTÍN-RAMOS, P. Life cycle analysis of macauba palm cultivation: A promising crop for biofuel production. **Industrial Crops and Products**, v. 125, n. August, p. 556–566, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.09.036>>.

GEÖCZE, K. C.; BARBOSA, L. C. A.; LIMA, C. F.; FERRUZZI, M. G.; FIDÊNCIO, P. H.; SANT'ANA, H. M. P.; SILVÉRIO, F. O. Caryocar brasiliense Camb. fruits from the Brazilian Cerrado as a rich source of carotenoids with pro-vitamin A activity. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 101, n. July 2020, p. 1–8, 2021.

Gerais. (2011). Lei No 19.485 de 13 de janeiro de 2011. *Diário Oficial da União*.

GOULA, A. M.; VERVERI, M.; ADAMOPOULOU, A.; KADERIDES, K. Green ultrasound-assisted extraction of carotenoids from pomegranate wastes using vegetable oils. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 34, p. 821–830, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.07.022>>.

GOULART, S. M. (2018). Colheita e pós-colheita de macaúba: qualidade do óleo da polpa para alimentação humana e aproveitamento da torta na alimentação animal. Tese doutorado em Fitotecnia), Programa de pós-graduação em Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

GRANDE, S. C.; CREN, E.C. Demanda de proteínas vegetais: potencialidades e o diferencial dos farelos de macaúba (revisão). **The Journal of Engineering and Exact Sciences**, v. 2, n. 3, p. 190-214, 2016.

HIANE, P. A.; BALDASSO, P. A.; MARANGONI, S.; LÍGIA, M.; MACEDO, R. Chemical and Nutritional Evaluation of Kernels of Bocaiuva. **Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas**, v. 26, n. 3, p. 683–689, 2006.

HLAVÁČ, P.; BOŽIKOVÁ, M.; PETROVIĆ, A. Selected Physical Properties Assessment of Sunflower and Olive Oils. **Acta Technologica Agriculturae**, v. 22, n. 3, p. 86–91, 2019.

HUANG, P.; YU, Q.; FENG, X.; MA, C.; KAN, J. Optimization of accelerated solvent extraction of paprika oleoresin and its effect on capsaicinoid and carotenoid composition. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 110, n. March, p. 104589, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104589>>.

JHA, A. K.; SIT, N. Extraction of bioactive compounds from plant materials using combination of various novel methods: A review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 119, n. October 2021, p. 579–591, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.11.019>>.

KIRUTHIKA, M.; SHIVASWAMY, M. S. Extraction of provitamin and non-provitamin carotenoid using conventional and modern extraction methods – A review. **Food and Humanity**, v. 2, p. 100241, maio 2024.

KUMAR, S., DAR, A. H., SRIVASTAVA, S., DASH, K. K., & PANDEY, V. K. Carotenoids based Smart Packaging: A comprehensive review. **Measurement: Food**, p. 100190, 2024. Disponível em:

<<https://doi.org/10.1016/j.meafoo.2024.100190>>.

LANES, E.C. M; DE ALMEIDA COSTA, P. M; MOTOIKE, S.Y. Brazil promotes aviation biofuels. **Nature**, v. 511, n. 7507, p. 31-31, 2014.

LIMA, J. M. de; THOMAZINI, M.; TRINDADE, C. S. F.; SANTOS, M. G. dos. EXTRAÇÃO DE β -CAROTENO DA MACAÚBA. **The Journal of Engineering and Exact Sciences**, v. 3, n. 6, p. 0796–0800, 29 ago. 2017. Disponível em: <<https://periodicos.ufv.br/ojs/jcec/article/view/2386>>.

LOPES, D. de C.; STEIDLE NETO, A. J.; MENDES, A. A.; PEREIRA, D. T. V. Economic feasibility of biodiesel production from Macauba in Brazil. **Energy Economics**, v. 40, p. 819–824, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.eneco.2013.10.003>>.

LOPES LESSA, V.; HARUMI OMURA, M.; PACHECO, S.; BASÍLIO DE OLIVEIRA, E.; RIBEIRO DE BARROS, F. A. Obtention and evaluation of physico-chemical and techno-functional properties of macauba (*Acrocomia aculeata*) kernel protein isolate. **Food Research International**, v. 161, 1 nov. 2022.

LÓPEZ BERMÚDEZ, Y. N.; ALDANA HEREDIA, J. F.; SÁNCHEZ-CAMARGO, A. del P.; HERNÁNDEZ-CARRIÓN, M. Valorization Strategies for a By-Product of Organic Tomato Processing as Potential Ingredient in Functional Food Formulations. **Frontiers in Food Science and Technology**, v. 2, 15 jul. 2022.

MAOKA, T. Carotenoids as natural functional pigments. **Journal of Natural Medicines**, v. 74, n. 1, p. 1–16, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s11418-019-01364-x>>.

MAUL, Aldo Adolar; WASICKY, Roberto; BACCHI, Elfriede Marianne. Extração por fluido supercrítico. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 5, p. 185-200, 1996.

MENEZES, E. G. O.; BARBOSA, J. R.; PIRES, F. C. S.; FERREIRA, M. C. R.; DE SOUZA E SILVA, A. P.; SIQUEIRA, L. M. M.; DE CARVALHO JUNIOR, R. N. Development of a new scale-up equation to obtain Tucumã-of-Pará (*Astrocaryum vulgare* Mart.) oil rich in carotenoids using supercritical CO₂ as solvent. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 181, n. November 2021, p. 105481, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.supflu.2021.105481>>.

MENEZES SILVA, J. V.; SILVA SANTOS, A.; ARAUJO PEREIRA, G.; CAMPOS CHISTÉ, R. Ultrasound-assisted extraction using ethanol efficiently extracted carotenoids from peels of peach palm fruits (*Bactris gasipaes* Kunth) without altering qualitative carotenoid profile. **Heliyon**, v. 9, n. 4, 2023.

MERCADANTE, A. Z.; RODRIGUES, D. B.; PETRY, F. C.; MARIUTTI, L. R. B. Carotenoid esters in foods - A review and practical directions on analysis and occurrence. **Food Research International**, v. 99, p. 830–850, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2016.12.018>>.

MONTEIRO, S. F.; COSTA, E. L. N.; FERREIRA, R. S. B.; CHISTÉ, R. C. Simultaneous extraction of carotenoids and phenolic compounds from pulps of orange and yellow peach palm fruits (*Bactris gasipaes*) by ultrasound-assisted extraction. **Food**

Science and Technology (Brazil), v. 42, p. 1–9, 2022.

MONTOYA, S. G.; MOTOIKE, S. Y.; KUKI, K. N.; COUTO, A. D. Fruit development, growth, and stored reserves in macauba palm (*Acrocomia aculeata*), an alternative bioenergy crop. **Planta**, v. 244, n. 4, p. 927–938, 2016.

MORE, P.; JAMBRAK, A.; ARYA, S. Environment-friendly and sustainable techniques for extraction of food bioactive compounds and waste valorization. **Trends in Food Science & Technology Green** v. 128, n. May 2021, p. 296–315, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.08.016>>.

MORTENSEN, A. Carotenoids and other pigments as natural colorants. **Pure and Applied Chemistry**, v. 78, n. 8, p. 1477–1491, 2006.

MOURA, E. F.; VENTRELLA, M. C.; MOTOIKE, S. Y. Anatomy , histochemistry and ultrastructure of seed and somatic embryo of *Acrocomia aculeata* (*Arecaceae*). **Scientia Agricola**. v. 67, p. 399-407, 2010.

MUNHOZ, C. L.; GUIMARÃES, R. de C. A.; NOZAKI, V. T.; SANJINEZ-ARGANDOÑA, E. J.; MACEDO, M. L. R. Composição química e de fatores antinutricionais de frutos de bocaiuva. **Ambiência**, v. 14, n. 1, 2018.

NELLIS, S. C.; CORREIA, A. de F. K.; SPOTO, M. H. F. Extração e quantificação de carotenoides em minitomate desidratado (Sweet Grape) através da aplicação de diferentes solventes. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 20, 2017.

NUCCI, S. M.; AZEVEDO-FILHO, J. A.; COLOMBO, C. A.; PRIOLLI, R. H. G.; COELHO, R. M.; MATA, T. L.; ZUCCHI, M. I. Development and characterization of microsatellites markers from the macaw. **Molecular Ecology Resources**, v. 8, n. 1, p. 224–226, 2008.

ORDÓÑEZ-SANTOS, L. E.; ESPARZA-ESTRADA, J.; VANEGAS-MAHECHA, P. Ultrasound-assisted extraction of total carotenoids from mandarin epicarp and application as natural colorant in bakery products. **Lwt**, v. 139, n. November 2020, 2021.

PEREIRA, B. do N.; CAVALCANTE, D. D.; BEZERRA, K. C. B.; OLIVEIRA, A. M. C. de. Macaúba (*acrocomia aculeata*): determinação da composição centesimal e seu potencial para a saúde. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 15, p. e120101522689, 21 nov. 2021. Disponível em: <<https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/22689>>.

PEREIRA, G. S. L.; MAGALHÃES, R. da S.; FRAGA, S.; DE SOUZA, P. T.; DE LIMA, J. P.; MEIRELLES, A. J. de A.; SAMPAIO, K. A. Extraction of bioactive compounds from *Butia capitata* fruits using supercritical carbon dioxide and pressurized fluids. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 199, n. April, 2023.

PÉREZ-GÁLVEZ, A.; VIERA, I.; ROCA, M. Carotenoids and chlorophylls as antioxidants. **Antioxidants**, v. 9, n. 6, p. 1–39, 2020.

PHAN, K.; RAES, K.; VAN SPEYBROECK, V.; ROOSEN, M.; DE CLERCK, K.; DE MEESTER, S. Non-food applications of natural dyes extracted from agro-food residues:

A critical review. **Journal of Cleaner Production**, v. 301, p. 126920, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.126920>>.

PINTO, M. R. M. R. Obtenção de extrato de carotenoides de polpa de pequi (Caryocar brasiliense Camb.) encapsulados pelo método de secagem em camada de espuma. p. 86, 2012.

QUEIROZ, Lo Aires Lombardi. Análise de procedimentos pós-colheita do fruto da macaúba (Acrocomia aculeata) e refino do óleo da polpa. 2016. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Minas Gerais.

RAHIMI, S.; MIKANI, M. Lycopene green ultrasound-assisted extraction using edible oil accompany with response surface methodology (RSM) optimization performance: Application in tomato processing wastes. **Microchemical Journal**, v. 146, n. October 2018, p. 1033–1042, maio 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.02.039>>.

REGAL, P.; LAMAS, A.; FENTE, C. A.; FRANCO, C. M.; CEPEDA, A. **Analysis and metabolomics of carotenoids**. [s.l.] Elsevier Inc., 2019. 189–222 p.

RODRIGUEZ-AMAYA, Delia B. et al. **A guide to carotenoid analysis in foods**. Washington, DC, USA:: ILSI press, 2001.

SAINI, R. K.; KEUM, Y. S. Carotenoid extraction methods: A review of recent developments. **Food Chemistry**, v. 240, n. April 2017, p. 90–103, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.099>>.

SÁNCHEZ-CAMARGO, A. del P.; GUTIÉRREZ, L. F.; VARGAS, S. M.; MARTINEZ-CORREA, H. A.; PARADA-ALFONSO, F.; NARVÁEZ-CUENCA, C. E. Valorisation of mango peel: Proximate composition, supercritical fluid extraction of carotenoids, and application as an antioxidant additive for an edible oil. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 152, p. 104574, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.supflu.2019.104574>>.

SANT'ANA, C. T.; AGRIZZI VEREDIANO, T.; GRANCIERI, M.; TOLEDO, R. C. L.; TAKO, E.; COSTA, N. M. B.; MARTINO, H. S. D.; DE BARROS, F. A. R. Macauba (Acrocomia aculeata) Pulp Oil Prevents Adipogenesis, Inflammation and Oxidative Stress in Mice Fed a High-Fat Diet. **Nutrients**, v. 15, n. 5, 2023a.

SANT'ANA, C. T.; COSTA, N. M. B.; MARTINO, H. S. D.; BARROS, F. A. R. de. Macauba (Acrocomia aculeata): promising source of nutrients and association with health benefits, a review. **Research, Society and Development**, v. 12, n. 2, p. e13912239223, 2023b.

SCHEx, R.; LIEB, V. M.; JIMÉNEZ, V. M.; ESQUIVEL, P.; SCHWEIGGERT, R. M.; CARLE, R.; STEINGASS, C. B. HPLC-DAD-APCI/ESI-MS n analysis of carotenoids and α -tocopherol in Costa Rican Acrocomia aculeata fruits of varying maturity stages. **Food Research International**, v. 105, n. September 2017, p. 645–653, mar. 2018.

SHARMA, I., KHARE, N., & RAI, A. Carotenoids: Sources, Bioavailability and Their Role in Human Nutrition. *In: Intech*. [s.l.: s.n.]p. 15.

SILVA, D. S. N.; SILVA, M. de S.; COELHO, T. L. S.; DANTAS, C.; LOPES JÚNIOR, C. A.; CALDAS, N. M.; VIEIRA, E. C. Combining high intensity ultrasound and experimental design to improve carotenoid extraction efficiency from Buriti (*Mauritia flexuosa*). **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 88, n. June, p. 106076, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2022.106076>>.

TILAHUN, W. W.; GROSSI, J. A. S.; FAVARO, S. P. Combination of storage followed by drying assures higher yield and quality of macauba (*Acrocomia aculeata*) pulp oil. **Applied Food Research**, v. 2, n. 1, p. 100090, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.afres.2022.100090>>.

YADAV, S.; TIWARI, K. S.; GUPTA, C.; TIWARI, M. K.; KHAN, A.; SONKAR, S. P. A brief review on natural dyes, pigments: Recent advances and future perspectives. **Results in Chemistry**, v. 5, n. October 2022, p. 100733, 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.rechem.2022.100733>>.

8. APÊNDICES

8.1 Apêndice A- Testes preliminares com maiores faixas de temperatura e diferentes solventes.

Para determinar as variáveis a serem trabalhadas no estudo, foram realizados testes preliminares (TP) em banho-maria, utilizando três tipos de solventes (acetato de etila, álcool isopropílico e etanol) como variável categórica, enquanto as variáveis contínuas foram o tempo (5 e 30 minutos) e a temperatura (25,40,50,60 e 70°C), a fim de se obter as melhores condições para a realização dos experimentos subsequentes (Tabelas A1 e A2).

Tabela A1 – Resultados da extração de carotenoides totais ($\mu\text{g/g}$) da polpa de macaúba em banho-maria, considerando as combinações de temperatura e tempos nos experimentos preliminares

Solventes	Fatores						
	25 °C - 5 min	40°C- 30 min	50°C- 30 min	6°C-5 min	60°C- 30 min	70°C-5 min	70°C- 30 min
Etanol	69,688	94,813	78,404	124,174	150,446	144,391	111,654
Acetato de etila	154,896	155,713	164,813	179,181	188,930	178,565	176,820
Álcool isopropílico	106,318	130,537	124,482	140,389	159,579	131,050	130,119

Fonte: Elaboração própria.

Tabela A2 – Resultados da extração de carotenoides totais ($\mu\text{g/g}$) da torta de macaúba em banho-maria, considerando as combinações de temperatura e tempos nos experimentos preliminares

Solventes	Fatores						
	25 °C - 5 min	40°C- 30 min	50°C- 30 min	6°C-5 min	60°C- 30 min	70°C-5 min	70°C- 30 min
Etanol	53,352	46,114	52,441	65,166	97,903	63,011	62,817
Acetato de etila	107,549	101,534	95,850	82,304	115,144	107,960	106,170
Álcool isopropílico	68,963	86,645	85,998	88,347	88,404	87,435	87,140

Fonte: Elaboração própria.

Com base nos resultados obtidos após os ensaios, foi realizada uma análise da eficiência de extração de carotenoides tanto para a polpa quanto para a torta utilizando diferentes solventes e condições de temperatura e tempo. A análise de variância (ANOVA) revelou que, para a polpa houve diferença estatística entre os solventes utilizados na extração de carotenoides da polpa ($p = 0,00008$). O acetato de etila foi o solvente mais eficaz entre os três, considerando a extração de carotenoides, o que pode ser justificado devido à sua menor polaridade comparada ao álcool isopropílico e etanol.

O etanol, sendo o mais polar, seria o menos eficiente para a extração de carotenoides apolares. Além dos solventes, os fatores como temperatura e tempo também mostraram ter um efeito significativo na extração de carotenoides da polpa ($p = 0,003$), o que sugere que as variações de temperatura e tempo influenciam diretamente na eficiência de extração, sendo necessário considerar esses parâmetros para maximizar o rendimento de carotenoides na polpa.

Para a torta, a ANOVA também indicou uma diferença significativa entre os solventes utilizados durante a extração de carotenoides ($p < 0,05$), efeito similar ao observado anteriormente. No entanto, diferentemente da polpa, os fatores de temperatura e tempo não mostraram ter um efeito estatisticamente significativo na extração de carotenoides da torta ($p = 0,122$).

Ao final dos testes preliminares, foi possível concluir que para a polpa, tanto o tipo de solvente quanto os fatores de temperatura e tempo influenciam significativamente a eficiência de extração de carotenoides. Isso implica que a otimização do processo de extração para a polpa deve considerar a avaliação de todos esses parâmetros. Já para a torta, embora o tipo de solvente continue sendo um fator importante, as variações de temperatura e tempo não mostraram um efeito significativo. Portanto, a escolha do solvente é o principal ponto a ser considerado na otimização da extração de carotenoides da torta. Esses resultados destacaram a importância de estabelecer as interações entre os diferentes solventes e as condições de extração para maximizar a eficiência de extração de carotenoides tanto da polpa quanto da torta.

Após a análise dos resultados, foram descartadas as combinações que utilizavam a temperatura de 70°C , onde se observou uma possível degradação dos carotenoides, conforme os valores de carotenoides totais. Foram selecionadas para o próximo teste as variáveis descritas no Apêndice B, com o objetivo de escolher o melhor solvente para a extração de carotenoides totais e aprimorar as evidências sobre a relação entre tempo e temperatura para as matérias-primas do estudo.

8.2 Apêndice B- Delineamento exploratório com diferentes solventes e faixa de temperatura estabelecida.

O trabalho foi dividido em dois delineamentos experimentais, dos quais inicialmente foi realizado um delineamento exploratório, para a determinação das melhores condições de temperatura de extração dos carotenoides da polpa e torta da macaúba, posteriormente os experimentos que obtiveram as maiores concentrações de carotenoides foram

utilizadas em um delineamento experimental subsequente cujo objetivo foi comparar a significância do uso do ultrassom em diferentes frequências para os ensaios.

O delineamento experimental escolhido para a primeira parte de otimização foi um Delineamento Composto Central de Face Centrada dividido em dois blocos (Figura B.1). Deste modo, o experimento foi realizado inicialmente considerando três tipos de solventes (acetato de etila, álcool isopropílico e etanol) como variável categórica, enquanto as variáveis contínuas foram o tempo e a temperatura. Esse delineamento com seus fatores e níveis é apresentado na Tabela B1. Estas condições foram alocadas em dois blocos, totalizando 84 experimentos, sendo a triplicata realizada apenas no ponto central.

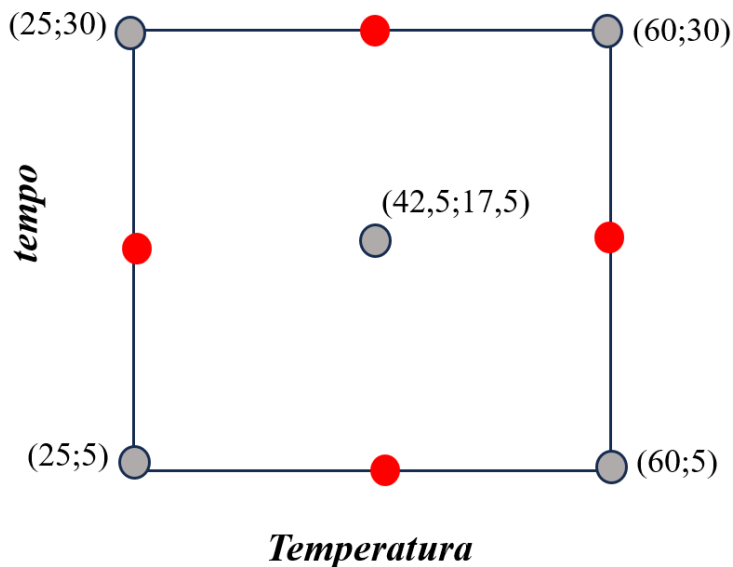


Figura B1- Demonstração do delineamento estatístico no plano
 Fonte: Elaboração própria.

Tabela B1 - Delineamento experimental completo para testes de otimização utilizado no banho-maria

Experimentos (n°)	Pontos	Blocos	Temperatura (°C)	Tempo (min)	Solvente
1	1	1	60	5	Álcool Isopropílico
2	0	1	42,5	17,5	Álcool Isopropílico
3	0	1	42,5	17,5	Etanol
4	0	1	42,5	17,5	Acetato de Etila
5	1	1	25	30	Etanol
6	0	1	42,5	17,5	Etanol
7	1	1	60	30	Etanol
8	0	1	42,5	17,5	Álcool Isopropílico
9	0	1	42,5	17,5	Acetato de Etila
10	1	1	60	5	Etanol
11	1	1	25	5	Acetato de Etila
12	0	1	42,5	17,5	Etanol

Tabela B1 – Continuação: Delineamento experimental completo para testes de otimização utilizado no banho-maria

Experimentos (n°)	Pontos	Blocos	Temperatura (°C)	Tempo (min)	Solvente
13	1	1	25	5	Etanol
14	0	1	42,5	17,5	Acetato de Etila
15	0	1	42,5	17,5	Álcool Isopropílico
16	1	1	60	30	Álcool Isopropílico
17	1	1	25	30	Acetato de Etila
18	1	1	60	5	Acetato de Etila
19	1	1	60	30	Acetato de Etila
20	1	1	25	5	Álcool Isopropílico
21	1	1	25	30	Álcool Isopropílico
22	-1	2	25	17,5	Álcool Isopropílico
23	0	2	42,5	17,5	Etanol
24	-1	2	25	17,5	Acetato de Etila
25	-1	2	42,5	30	Etanol
26	0	2	42,5	17,5	Álcool Isopropílico
27	0	2	42,5	17,5	Acetato de Etila
28	-1	2	60	17,5	Álcool Isopropílico
29	-1	2	60	17,5	Acetato de Etila
30	-1	2	42,5	30	Acetato de Etila
31	0	2	42,5	17,5	Etanol
32	0	2	42,5	17,5	Álcool Isopropílico
33	-1	2	42,5	5	Álcool Isopropílico
34	0	2	42,5	17,5	Acetato de Etila
35	0	2	42,5	17,5	Álcool Isopropílico
36	-1	2	42,5	30	Álcool Isopropílico
37	-1	2	42,5	5	Acetato de Etila
38	-1	2	42,5	5	Etanol
39	0	2	42,5	17,5	Etanol
40	-1	2	25	17,5	Etanol
41	0	2	42,5	17,5	Acetato de Etila
42	-1	2	60	17,5	Etanol

Fonte: Elaboração própria.

Tabela B2 - Delineamento experimental utilizado no banho-maria.

Tipo de Variáveis	Fator	Níveis		
Categóricas	Solventes	Acetato de Etila	Etanol	Álcool Isopropílico
		-1	0	+1
Contínuas	Temperatura (C°)	25	42,5	60
	tempo (min)	5	17,5	30

Fonte: Elaboração própria.

Tabela B3 - Resultados da extração de carotenoides totais em diferentes solventes utilizando o banho banho-maria

Experimento (n°)	Temperatura (°C)	Tempo (min)	Solvente	C.T Polpa (µg/g)	C.T Torta (µg/g)
4	42,5	17,5	A.E	219,79	92,59
9	42,5	17,5	A.E	223,26	92,59
11	25	5	A.E	209,38	89,12
14	42,5	17,5	A.E	200,69	92,59
17	25	30	A.E	229,86	92,36
18	60	5	A.E	212,50	106,25
19	60	30	A.E	221,18	104,17
24	25	17,5	A.E	222,92	111,81
27	42,5	17,5	A.E	202,78	119,79
29	60	17,5	A.E	213,54	106,60
30	42,5	30	A.E	229,51	106,25
34	42,5	17,5	A.E	214,24	109,72
37	42,5	5	A.E	236,46	113,19
41	42,5	17,5	A.E	221,18	110,42
22	25	17,5	A.I	192,36	80,32
1	60	5	A.I	135,76	88,89
2	42,5	17,5	A.I	185,42	75,46
8	42,5	17,5	A.I	206,25	85,65
15	42,5	17,5	A.I	180,56	89,24
16	60	30	A.I	196,18	91,32
20	25	5	A.I	145,49	110,42
21	25	30	A.I	193,06	89,47
26	42,5	17,5	A.I	186,81	92,59
28	60	17,5	A.I	185,76	110,19
32	42,5	17,5	A.I	202,78	104,86
33	42,5	5	A.I	195,14	79,28
35	42,5	17,5	A.I	172,22	74,65
36	42,5	30	A.I	202,08	87,96
3	42,5	17,5	E.T	129,86	49,42
5	25	30	E.T	98,15	73,61
6	42,5	17,5	E.T	110,88	72,69
7	60	30	E.T	85,30	79,98
10	60	5	E.T	91,32	74,65
12	42,5	17,5	E.T	116,44	84,72
13	25	5	E.T	82,73	72,19
23	42,5	17,5	E.T	103,01	85,53
25	42,5	30	E.T	112,04	92,13
31	42,5	17,5	E.T	102,78	90,51
38	42,5	5	E.T	84,03	83,10
39	42,5	17,5	E.T	82,87	73,03
40	25	17,5	E.T	88,66	85,42
42	60	17,5	E.T	92,25	82,52

Legenda: CT: Carotenoides Totais; AE: Acetato de Etila; AI: Álcool Isopropílico; E.T : Etanol.

Fonte: Elaboração própria.

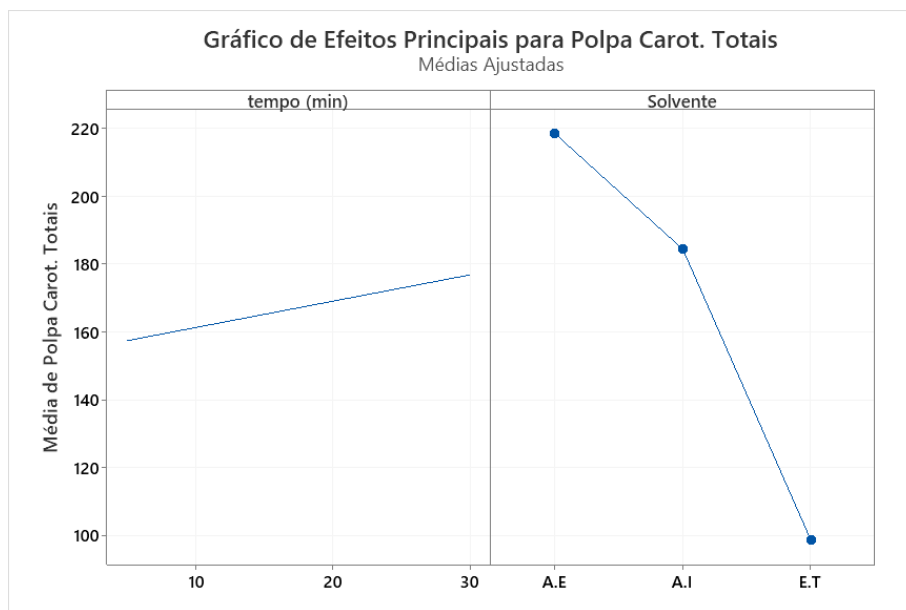


Figura B2 – Efeito do tempo e solventes na extração de carotenoides totais da polpa de macaúba em banho-maria

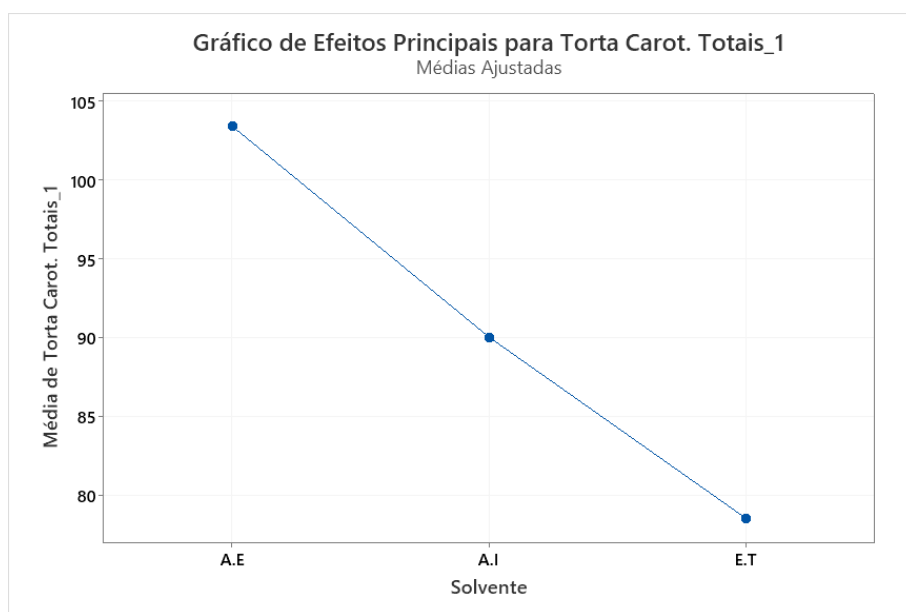


Figura B3 – Efeitos dos solventes na extração de carotenoides totais da torta de macaúba em banho-maria

Para o ensaio de otimização no ultrassom (32 experimentos), os mesmos solventes foram utilizados e as mesmas condições de tempo e temperatura foram exploradas, no entanto, também foi possível adicionar outro fator, a frequência, sendo uma importante variável a ser considerada em estudos de otimização (Tabela B4). Os resultados obtidos com o delineamento aplicado, podem ser observados na Tabela B5.

Tabela B4 - Delineamento experimental utilizado no ultrassom

Unidades	Níveis		Potência (W)
Temperatura (C°)	25	60	400
Tempo (min)	5	30	400
Frequência (kHz)	25	45	400

Fonte: Elaboração própria.

Tabela B5 – Resultados do experimento realizado em ultrassom com diferentes solventes

Solvente	Condição	C.T Polpa (µg/g)	C.T Torta (µg/g)
Acetato de etila	25°C - 5 min, 25 kHz	287,35	179,83
Etanol	25°C - 5 min, 25 kHz	144,13	130,23
Álcool isopropílico	25°C - 5 min, 25 kHz	142,03	122,53
Acetato de etila	50°C - 5 min, 25 kHz	286,99	169,02
Etanol	50°C - 5 min, 25 kHz	164,2	112,89
Álcool isopropílico	50°C - 5 min, 25 kHz	145,31	141,21
Acetato de etila	50°C - 30 min, 25 kHz	303,35	177,33
Etanol	50°C - 30 min, 25 kHz	171,89	112,48
Álcool isopropílico	50°C - 30 min, 25 kHz	174,74	150,65
Acetato de etila	60°C - 5 min, 25 kHz	279,96	182,41
Etanol	60°C - 5 min, 25 kHz	161,63	115,96
Álcool isopropílico	60°C - 5 min, 25 kHz	174,46	138,95
Acetato de etila	60°C - 30 min, 25 kHz	306,64	172,95
Etanol	60°C - 30 min, 25 kHz	181,46	91,19
Álcool isopropílico	60°C - 30 min, 25 kHz	195,75	141
Acetato de etila	25°C - 5 min, 45 kHz	236,44	189,85
Etanol	25°C - 5 min, 45 kHz	120,69	106,32
Álcool isopropílico	25°C - 5 min, 45 kHz	136,48	115,55
Acetato de etila	50°C - 5 min, 45 kHz	242,19	205,25
Etanol	50°C - 5 min, 45 kHz	147,57	110,42
Álcool isopropílico	50°C - 5 min, 45 kHz	148,68	126,02
Acetato de etila	50°C - 5 min, 45 kHz	245,89	172,92
Etanol	50°C - 5 min, 45 kHz	201,4	106,32
Álcool isopropílico	50°C - 5 min, 45 kHz	182,93	131,56
Acetato de etila	60°C - 5 min, 45 kHz	252,45	189,08
Etanol	60°C - 5 min, 45 kHz	177,64	105,5
Álcool isopropílico	60°C - 5 min, 45 kHz	170,35	133
Acetato de etila	60°C - 30 min, 45 kHz	270	188,06
Etanol	60°C - 30 min, 45 kHz	148,6	82,1
Álcool isopropílico	60°C - 30 min, 45 kHz	204,12	144,49

Legenda: C.T : Carotenoides Totais.

Fonte: Elaboração própria.