



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

DANYLLA CÁSSIA SOUSA DA SILVA

CARACTERIZAÇÃO DA GORDURA DA AMÊNDOA DE CUPUAÇU
(Theobroma grandiflorum S.) **OBTIDA POR EXTRAÇÃO AQUOSA**
ENZIMÁTICA

BÉLEM
2022



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

DANYLLA CÁSSIA SOUSA DA SILVA

CARACTERIZAÇÃO DA GORDURA DA AMÊNDOA DE CUPUAÇU
(Theobroma grandiflorum S.) **OBTIDA POR EXTRAÇÃO AQUOSA**
ENZIMÁTICA

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Pará, como requisito para a obtenção do título de Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora:

Prof^a. Dra. Luiza Helena Meller da Silva

BÉLEM
2022

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

S586c Silva, Danylla Cássia Sousa da.
Caracterização da gordura da amêndoa de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* S.) obtida por extração aquosa enzimática / Danylla Cássia Sousa da Silva. — 2022.
90 f. : il. color.

Orientador(a): Prof^a. Dra. Luiza Helena Meller da Silva
Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Pará, Instituto de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Belém, 2022.

1. Extração verde. 2. Eficiência de extração. 3. *Theobroma grandiflorum* S.. 4. Sementes amazônicas. I. Título.

CDD 664.022

DANYLLA CÁSSIA SOUSA DA SILVA

CARACTERIZAÇÃO DA GORDURA DA AMÊNDOA DE CUPUAÇU
(Theobroma grandiflorum S.) **OBTIDA POR EXTRAÇÃO AQUOSA**
ENZIMÁTICA

Data de Avaliação: 02/09/2022

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dra. Luiza Helena Meller da Silva
(PPGCTA/ITEC/UFPA - Orientadora)

Prof^ª. Dra. Edna Regina Amante
(PPGCTA/ITEC/UFPA – Membro titular)

Prof. Dr. Nelson Rosa Ferreira
(PPGCTA/ITEC/UFPA – Membro titular)

Prof^ª. Dra. Nádia Cristina Fernandes Corrêa
(FEA-UFPA – Membro titular)

Pesq. Dra. Nayara Macedo Peixoto Araújo
(Membro titular)

Às minhas mães, minhas guerreiras, por todo
carinho, zelo, amor, incentivo e compreensão.
Dedico a vocês esta conquista!

“Por um mundo onde sejamos socialmente iguais, humanamente diferentes e totalmente livres”.

Rosa Luxemburgo

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus e às Deusas da natureza, por suas carícias nas formas mais perfeitas e harmônicas: no toque da água da chuva, no canto dos pássaros, no verde das florestas, nas manhãs azuis e noites encantadas.

Agradeço especialmente às minhas mães, Célia e Edilene, pela força, afeto, incentivo e apoio em todos os momentos da minha vida. Mulheres guerreiras e poderosas que me inspiram!

À minha tia querida, Benedita, por todo apoio, carinho e acolhida.

Agradeço ao meu companheiro e amigo, Lucas, por todo amor, cuidado e incentivo.

À Universidade Federal do Pará e ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela oportunidade.

À Professora Dra. Luiza Helena Meller da Silva, pela acolhida e apoio.

À Capes, pela concessão da bolsa de doutorado.

À banca examinadora, pelas inúmeras correções e valiosas contribuições.

À COFRUTA pelo fornecimento das sementes de cupuaçu.

Agradeço às minha amigas e companheiras de laboratório, pelo carinho de sempre e pelo apoio nos experimentos e na pesquisa, em especial à Wanessa, Jézica, Dayala, Larissa e Fernanda.

Por fim, agradeço a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a minha formação e para a realização deste trabalho.

RESUMO

Caracterização da gordura da amêndoa de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* S.) obtida por extração aquosa enzimática

A extração aquosa enzimática é considerada uma técnica verde emergente que vem sendo amplamente pesquisada. Neste trabalho, foram utilizados as enzimas celulase, pectinase e protease no processo de extração aquosa da gordura de cupuaçu, visando obter maior rendimento de extração. Foram testados diferentes sistemas de incubação, à temperatura de 60 °C e avaliada a cinética de extração (2 a 8 horas). As amostras que obtiveram maiores eficiências de extração de gordura foram analisadas: fase aquosa, quanto aos teores de compostos fenólicos e atividades antioxidantes e fase oleosa (gorduras) caracterizada quanto às propriedades físico-químicas, perfil de ácidos graxos, estabilidade oxidativa, comportamento térmico e compostos bioativos. A fase aquosa demonstrou maiores concentrações de compostos fenólicos e atividades antioxidantes quando comparado à fase oleosa. As amostras de gordura apresentaram teores aproximados de ácidos graxos monoinsaturados e saturados com maiores concentrações de oleico e esteárico, boa estabilidade oxidativa (cerca de 14 h) e térmica (próximo de 406 °C) e o melhor resultado de rendimento (80,86 %) foi alcançado com a enzima protease no tempo de 6 horas de incubação. Os resultados indicaram que as gorduras de cupuaçu obtidas por extração aquosa enzimática apresentam potencial para utilização nos setores alimentícios, farmacêuticos e cosméticos.

Palavras-chave: Extração verde, eficiência de extração, *Theobroma grandiflorum* S., sementes amazônicas, qualidade.

ABSTRACT

Characterization of cupuassu almond (*Theobroma grandiflorum* S.) fat obtained by aqueous enzymatic extraction

Aqueous enzymatic extraction is considered an emerging green technique that is being extensively investigated. In this work, cellulase, pectinase and protease enzymes are used in the aqueous extraction process of cupuassu fat, aiming to obtain a higher extraction yield. Different incubation systems were tested, at a temperature of 60 °C and following extraction kinetics (2 to 8 hours). The samples that obtained the highest fat extraction efficiencies were analyzed: aqueous phase, in terms of phenolic compounds and antioxidant activity, and oily phase (fats) characterized in terms of physicochemical properties, fatty acid profile, oxidative stability, thermal and bioactive compounds. The aqueous phase showed higher concentrations of phenolic compounds and antioxidant activity when compared to the oil phase. The fat samples showed approximate contents of monounsaturated and saturated fatty acids with higher concentrations of oleic and stearic, showed good oxidative stability (about 14 h) and thermal stability (close to 406 °C) and the best yield result (80.86 %) was achieved with the protease enzyme within 6 hours of incubation. The results indicated that cupuassu fats obtained by enzymatic aqueous extraction have potential for use in the food, pharmaceutical and cosmetics sectors.

Keywords: Green extraction, extraction efficiency, *Theobroma grandiflorum* S., Amazonian seeds, quality.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Planta do cupuaçu (A) e fruto (B).....	18
Figura 2 - Ácidos graxos poli-insaturados das séries ω -9, ω -6 e ω -3.....	22
Figura 3 - Características do principais métodos de extração de óleos	30
Figura 4 - Fluxograma do processo de preparo das amostras para posterior extração de gordura.	45
Figura 5 – Processo de extração de gordura da amêndoa de cupuaçu de acordo com os diferentes pré-tratamentos efetuados nas sementes e sistemas de incubação.....	47
Figura 6 – Cinética de extração da gordura da amêndoa de cupuaçu, utilizando celulase, pectinase e protease, conduzida sob as seguintes condições experimentais: matéria-prima autoclavada e seca (AU+SE), concentração 1:5 (m/v), incubação em agitador orbital (AO) a temperatura de 60 °C.....	57
Figura 7 - Espectros vibracionais no infravermelho das amostras de gordura de cupuaçu ((GCE: gordura obtida com celulase (8 h); GPE: gordura obtida com pectinase (8 h); GPR: gordura obtida com protease (6 h)).	68
Figura 8 – Curvas TG – DTG das amostras de gordura de cupuaçu ((GCE: gordura obtida com celulase (8 h); GPE: gordura obtida com pectinase (8 h); GPR: gordura obtida com protease (6 h)) em atmosfera de nitrogênio, aquecida até a temperatura de 600 °C na razão de aquecimento de 10 °Cmin ⁻¹	71
Figura 9 – Curvas de DSC das amostras de gordura de cupuaçu, GCE: gordura obtida com celulase (8 h); GPE: gordura obtida com pectinase (8 h); GPR: gordura obtida com protease (6 h).....	74

Tabela 1 – Principais ácidos graxos presentes em espécies oleaginosas e seus pontos de fusão.....	21
Tabela 2 - Produção mundial dos principais óleos vegetais comercializados	25
Tabela 3 - Composição centesimal de semente de cupuaçu.....	27
Tabela 4 - Composição de ácidos graxos na gordura de cupuaçu (BEZERRA et al., 2017; SERRA et al., 2019)	28
Tabela 5 – Resultados de pesquisas realizadas com uso de enzimas na extração de óleos vegetais.....	31
Tabela 6 – Eficiência de extração da gordura da amêndoa de cupuaçu, de acordo com os diferentes pré-tratamentos efetuados nas sementes e sistemas de incubação...	56
Tabela 7 – Cinética de extração da gordura da amêndoa de cupuaçu, utilizando celulase, pectinase e protease, conduzida sob as seguintes condições experimentais: matéria-prima autoclavada e seca (AU+SE), concentração 1:5 (m/v), incubação em agitador orbital (AO) a temperatura de 60 °C.....	58
Tabela 8 – Propriedades físico-químicas da gordura da amêndoa de cupuaçu, GCE, GPE e GPR e composição de antioxidantes.. ..	60
Tabela 9 – Número de onda (cm ⁻¹) dos picos identificados nos espectros das amostras de gordura de cupuaçu (GCE, GPE e GPR).....	67
Tabela 10 - Comportamento térmico por termogravimetria das amostras de gordura de cupuaçu GCE, GPE e GPR	70
Tabela 11 - Comportamento térmico por DSC das amostras de gordura de cupuaçu GCE, GPE e GPR.....	72

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
2 OBJETIVOS.....	17
2.1 OBJETIVO GERAL.....	17
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	17
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	18
3.1. CUPUAÇU (<i>Theobroma grandiflorum</i>).....	18
3.2 ÓLEOS E GORDURAS VEGETAIS.....	20
3.2.1. Definição e importância biológica	20
3.2.2. Mercado	24
3.2.3. Óleos e gorduras vegetais amazônicas	25
3.2.3.1 Gordura de cupuaçu.....	27
3.3 EXTRAÇÃO DE ÓLEOS E GORDURAS.....	29
3.3.1 Extração aquosa enzimática.....	30
3.3.2 Enzimas.....	32
3.3.2.1 Celulase	32
3.3.2.2 Pectinase	34
3.3.2.3 Protease	35
3.4 COMPOSTOS FENÓLICOS.....	36
3.5 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE.....	37
3.6 ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA.....	39
3.7 INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (ATR-FTIR).....	40
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	42
4.1 MATÉRIA – PRIMA.....	42
4.2 ENZIMAS.....	42
4.3 CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA	42
4.3.1 Umidade e lipídios.....	42
4.3.2 Capacidade antioxidante (ABTS).....	42
4.3.2.1 Preparo do extrato	42
4.3.2.2 Capacidade antioxidante pelo método ABTS	
4.3.3 Fenóis totais.....	43
4.3.3.1 Preparo do extrato	43

4.3.3.2 Concentração de fenólicos totais	44
4.4 PROCESSO DE EXTRAÇÃO.....	45
4.4.1 Preparo da amostra.....	45
4.4.1.1 Pré-tratamento das semente	46
4.4.1.2 Trituração.....	46
4.4.2 Processo de extração aquosa enzimática.....	47
4.4.3 Eficiência da extração.....	49
4.5 CARACTERIZAÇÃO DA GORDURA.....	49
4.5.1 Perfil de ácidos graxos.....	49
4.5.2 Índice de iodo	50
4.5.3 Índice de saponificação.....	50
4.5.4 Índice de acidez.....	50
4.5.5 Índice de peróxido.....	50
4.5.6 Estabilidade oxidativa.....	51
4.5.7 Índices de qualidade nutricional	51
4.5.8 Compostos bioativos.....	52
4.5.8.1 Capacidade antioxidante pelo método ABTS	52
4.5.8.2 Fenóis totais	53
4.5.9 Infravermelho com transformada de Fourier (ATR-FTIR).....	53
4.5.10 Análise termogravimétrica (TG - DTG)	53
4.5.11 Calorimetria diferencial exploratória (DSC).....	53
4.6 ANÁLISE DO EXTRATO AQUOSO.....	54
4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	54
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	55
5.1 CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA.....	55
5.2 PROCESSO DE EXTRAÇÃO AQUOSA ENZIMÁTICA	55
5.3 CARACTERIZAÇÃO DA GORDURA	59
5.3.1 Perfil de ácidos graxos	61
5.3.2 Índices de qualidade nutricional	62
5.3.3 Índices de iodo e saponificação.....	63
5.3.4 Índices de acidez e peróxido.....	64
5.3.5 Estabilidade oxidativa.....	64
5.3.6 Capacidade antioxidante e compostos fenólicos.....	65

5.3.7 Infravermelho com transformada de Fourier (ATR-FTIR).....	67
5.3.8 Análise termogravimétrica (TG - DTG).....	69
5.3.9 Calorimetria diferencial exploratória (DSC).....	72
6 CONCLUSÃO.....	75
REFERÊNCIAS.....	76

A floresta amazônica possui grande diversidade de espécies frutíferas que representa um potencial econômico para a região, com isso muitos estudos estão sendo conduzidos em relação aos componentes nutricionais, funcionais e os aspectos econômicos para exploração comercial desses frutos, relacionados ao seu maior aproveitamento na elaboração de produtos farmacêuticos, alimentícios e cosméticos (SANTOS et al., 2010; PARDAUIL et al., 2011; SANTOS et al., 2012).

O cupuaçuzeiro é uma árvore encontrada nas matas da região Amazônica, principalmente nos Estados do Pará, Amazonas, Rondônia e Acre (IBGE, 2017). Em 2018 o plantio do cupuaçuzeiro representou cerca de 8.545 hectares em área plantada, com produção total de 27.510 toneladas do fruto (SEDAP/PA, 2020).

Seu valor econômico se dá, principalmente, pela industrialização e comercialização da polpa, amplamente utilizada na produção de sucos, sorvetes, licores, geleias e iogurtes (COSTA et al., 2017, PEREIRA et al., 2018). As sementes, que representam aproximadamente 20 % do peso do fruto, em função do alto conteúdo lipídico (aproximadamente 60 % de sua composição) são utilizadas atualmente para a obtenção de gordura, além de potencial fonte de compostos fenólicos e polissacarídeos (AZEVEDO et al., 2003; CONTRERAS-CALDERÓN et al., 2011; OLIVEIRA; GENOVESE, 2013).

Óleos e gorduras saudáveis vêm sendo estudados como fontes alternativas para substituírem os usados tradicionalmente (TEIXEIRA et al., 2013; DORNI et al., 2018, SILVA et al., 2019; SANTOS et al., 2022a) em formulações como cremes vegetais, margarinas, chocolates, gorduras especiais para frituras, panificação e confeitaria (SILVA et al., 2010). Sendo a gordura do cupuaçu em função de sua composição em ácidos graxos, principalmente ácido oleico (18:1), utilizada na preparação de chocolates, como substituto da manteiga de cacau (OLIVEIRA; GENOVESE, 2013).

Tradicionalmente, os óleos e gorduras são obtidos por extração mecânica, com solvente ou pela combinação de ambos. Métodos alternativos como a extração por fluídos super crítico, micro-ondas, enzimática e por ultrassom vêm ganhando destaque, sendo o principal desafio para implantação industrial o rendimento em óleo comparado aos métodos tradicionais (SOH; ZIMMERMAN, 2011; TANG et al., 2011).

A extração aquosa enzimática é uma tecnologia verde, que emprega enzimas para tornar a estrutura da parede celular mais permeável expondo o conteúdo de óleo e utiliza temperaturas brandas que reduzem a degradação de compostos termo sensíveis promovendo maior qualidade ao produto final (YUSOFF et al., 2017; NGUYEN et al., 2020; SANTOS et al., 2022a).

Nas últimas décadas diversos pesquisadores vêm aplicando o processo de extração enzimática para obtenção de óleos em diversas matrizes vegetais (ROSENTHAL et al., 1996; LAMSAL; JOHNSON, 2007; WANG et al., 2011; QI, 2012; TEIXEIRA et al., 2013; ASSANVO et al., 2016; RIBEIRO et al., 2016; PENGFEI et al., 2017, SILVA et al., 2019; HU et al., 2019; SANTOS et al., 2022a) com resultados promissores.

Visando ampliar o potencial de uso da semente de cupuaçu, o presente trabalho objetivou caracterizar a gordura de cupuaçu obtida por extração aquosa-enzimática, buscando contribuir para o desenvolvimento de novas aplicações tecnológicas.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Extrair a gordura de cupuaçu por via aquosa-enzimática e caracterizá-la, visando contribuir para o desenvolvimento de novas aplicações tecnológicas.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar a semente de cupuaçu quanto aos teores de umidade, lipídeos e compostos bioativos (antioxidantes e fenólicos totais).
- Avaliar o processo de extração, aquoso enzimático, das gorduras da amêndoa de cupuaçu.
- Caracterizar as gorduras obtidas através do perfil de ácidos graxos, índices de iodo, saponificação, acidez, peróxidos, estabilidade térmica, índices de qualidade nutricional, análises térmicas e composição por infravermelho com transformada de Fourier (ATR-FTIR).

3 REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO

3.1. CUPUAÇU (*Theobroma grandiflorum*)

O cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum* (Willd. ex. Spreng.) Schum) é uma das 22 espécies pertencente ao gênero *Theobroma*, do qual o cacauzeiro é a espécie economicamente mais importante. É nativo da região Amazônica, encontrado no Norte do Brasil, com maior produção no estado do Pará, seguido dos estados do Amazonas, Rondônia e Acre. Podendo também ocorrer na Colômbia, Costa Rica e Venezuela (LIM, 2012; IBGE, 2017).

O cupuaçu apresenta excelentes características de aroma, sabor e textura, tendo adquirido grande aceitação no mercado nacional e internacional, e por este motivo se tornou um fruto com grande potencial econômico na industrialização e comercialização (PEREIRA et al., 2018).

A árvore do cupuaçuzeiro pode atingir de 4 a 10 m de altura e 7 m de diâmetro de copa. O fruto é do tipo drupáceo (que tem bagas), de forma alongada e extremidades arredondadas, medindo de 12 a 25 cm de comprimento e 10 a 12 cm de diâmetro (VILALBA et al., 2004). A casca (epicarpo) é rígida e lenhosa, recoberta por uma camada de pó ferrugíneo que, quando raspada, expõe a epiderme de coloração verde. A casca também é constituída do mesoendocarpo (camada mais interior) de cor branco amarelada, com aproximadamente 7 mm de espessura, e o endocarpo (polpa que envolve as sementes) é macio, fino e claro, limitado internamente por uma película (COHEN, 2003). A Figura 1 ilustra a planta e o fruto do cupuaçu.

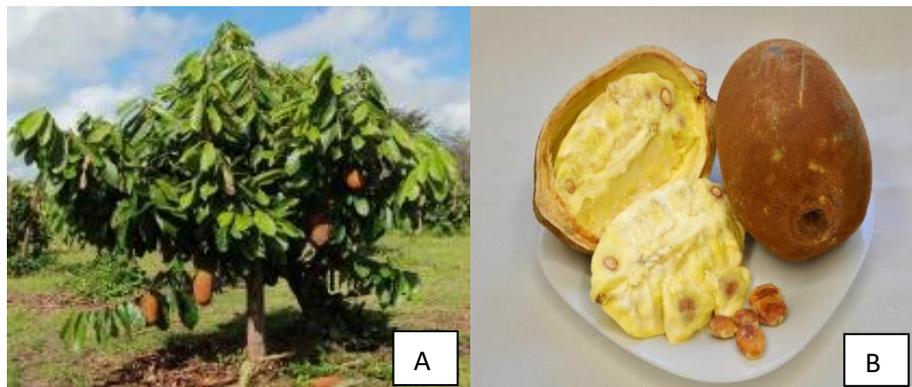


Figura 1 - Planta do cupuaçu (A) fruto (B).

Fonte: Fruta (2019).

Cada fruto possui em média 36 sementes, estando dispostas em torno de um eixo central, conhecido popularmente como talo, longitudinalmente disposto em relação ao

comprimento da fruta. As sementes são revestidas firmemente por uma polpa amarelada, abundante, ácida, com sabor e odor muito agradáveis (VILALBA et al., 2004).

De acordo com Vilalba e colaboradores (2004), os frutos pesam cerca de 1,275 kg, sendo aproximadamente 38,5 % de polpa, 17,19 % de sementes, 43 % de casca e 2,85 % de placenta. A utilização do fruto cupuaçu está associada, principalmente, ao consumo da polpa, que ainda é o alicerce econômico da cadeia produtiva dessa espécie, principalmente por suas propriedades sensoriais e aromáticas, adequadas para o processamento em sucos, doces, geleias e outros (PUGLIESE et al., 2013; ALVES et al., 2021). Além da polpa, a semente é outro componente do fruto que tem despertado interesse, devido ao seu potencial tecnológico, pois pesquisas revelaram, além do elevado conteúdo lipídico a presença antioxidantes (AZEVEDO et al., 2003; CONTRERAS-CALDERÓN et al., 2011; OLIVEIRA; GENOVESE, 2013), atraindo empresas do ramo farmacêutico e de cosméticos. Ademais, é matéria-prima para a fabricação do cupulate, produto análogo as chocolate, com potencial mercadológico e processo tecnológico já desenvolvido (GENOVESE; LANNES, 2009; ALVES et al., 2014).

A casca, por sua vez, pode ser aproveitada para produção de pães, na indústria alimentícia, e no setor agropecuário para produção de ração de peixes, ovinos e bovinos, podendo ainda ser usada como adubo orgânico para cultivo de outras plantas (ME, 2007; SOCHA; PINHEIRO, 2016).

O cupuaçuzeiro é uma frutífera perene, cultivada tradicionalmente em quintais e pequenos pomares. Porém, seu cultivo racional vem se expandindo nos últimos anos, em decorrência, principalmente, do aumento da demanda do fruto nos mercados nacionais e internacionais (ALVES et al., 2021).

De acordo com dados da Secretaria de Estudo de Desenvolvimento Agropecuário e da Pesca do Estado do Pará- SEDAP/PA (2020), no ano de 2018, o estado do Pará produziu aproximadamente 27,5 mil toneladas de cupuaçu, provenientes de 8,5 mil hectares de área plantada, com rendimento médio de 3,2 mil quilos por hectare. Estima-se que a mesorregião nordeste do estado é responsável por aproximadamente 50% dessa produção, sendo o restante distribuído entre as demais mesorregiões. A microrregião de Tomé-Açu, que, compreende os municípios de Acará, Moju, Concórdia do Pará e Tailândia, representa 63% da produção do nordeste paraense e 32% da produção estadual, sendo considerado o principal polo produtor de cupuaçu no estado (ALVES et al., 2021). Grande parte dessa produção é oriunda de agricultores nipo-brasileiros, instalados na microrregião, que contam com uma cooperativa no município de Tomé-Açu responsável pelo beneficiamento e escoamento da produção (ALVES et al., 2014; ALVES et al., 2021).

O *Theobroma grandiflorum*, evidencia-se como uma importante espécie na região amazônica por seus diversos usos e possíveis aplicações nas indústrias de alimentos, cosméticas e farmacêuticas e tem sido investigado devido à sua capacidade antioxidante, propriedade benéfica para a saúde. Estudos fitoquímicos utilizando a polpa e as sementes de cupuaçu demonstraram que os mesmos contêm polifenóis, entre eles flavonas e proantocianidinas (PUGLIESE et al., 2013; PINENT et al., 2015; BARROS et al., 2016).

3.2 ÓLEOS E GORDURAS VEGETAIS

3.2.1. Definição e importância biológica

Os lipídios, juntamente com carboidratos e proteínas, formam o grupo de compostos mais importante nos alimentos e mais frequentemente encontrados na natureza, tanto em espécies vegetais como animais. Desempenham papéis muito importantes em diversas funções biológicas e ainda estão presentes na composição estrutural das células (BOBBIO; BOBBIO, 2003).

Nas plantas, os lipídios representam uma reserva química de energia, ocorrendo com maior frequência nas sementes, frutas e folhas e, em menor proporção, nas raízes, caules e flores. Muitas espécies acumulam óleos em suas sementes em desenvolvimento para atuar como reserva de energia durante a germinação (SOMERVILLE et al., 2000).

Estruturalmente, os lipídios são formados por uma molécula de glicerol na qual estão esterificadas uma (monoacilglicerol), duas (diacilglicerol) ou três (triacilglicerol) moléculas de ácidos graxos. Os ácidos graxos são ácidos carboxílicos constituídos por cadeias de hidrocarbono com um grupo carboxila terminal. Eles se diferenciam pelo comprimento da cadeia e o número, posição e configuração das duplas ligações. Quando saturados, os ácidos graxos, possuem apenas ligações simples entre os carbonos e possuem pouca reatividade química. Já os insaturados, contêm uma ou mais ligações duplas no seu esqueleto carbônico, são mais reativos e mais suscetíveis a oxidação (WADA, 2007).

Existe uma estreita correlação entre a estrutura química do óleo vegetal e algumas de suas propriedades físico-químicas. Matrizes lipídicas ricas em ácidos graxos saturados, tendem a apresentar-se na forma sólida à temperatura ambiente e são denominadas de gorduras, enquanto os óleos, possuem cadeia carbônica com maiores concentrações de ácidos graxos insaturados (especialmente poli-insaturados) e são líquidos a temperatura ambiente. De maneira

análoga, os óleos por possuírem um número maior de insaturações, expressam menor ponto de fusão (líquidos à temperatura ambiente) (WADA, 2007; KAWAZOE, 2014).

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), os óleos vegetais se apresentam na forma líquida à temperatura de 25 °C, enquanto as gorduras vegetais, na forma sólida ou pastosa nesta mesma temperatura (BRASIL, 2005).

A composição química e o grau de insaturação dos óleos e gorduras vegetais variam conforme a espécie oleaginosa. Na Tabela 1, encontram-se os ácidos graxos mais comumente encontrados nas oleaginosas e seus respectivos pontos de fusão.

Tabela 1 – Principais ácidos graxos presentes em espécies oleaginosas e seus pontos de fusão.

Ácidos graxos	Símbolo	Ponto de fusão (%)
Saturados		
Ácido butírico	C4:0	- 4,2
Ácido caproico	C6:0	-3,4
Ácido caprílico	C8:0	16,7
Ácido láurico	C12:0	44,2
Ácido mirístico	C14:0	54,4
Ácido palmítico	C16:0	62,9
Ácido esteárico	C18:0	69,6
Ácido araquídico	C20:0	75,4
Insaturados		
Ácido palmitoleico	C16:1	0,5
Ácido oleico	C18:1	16,0
Ácido linoleico	C18:2	-5,0
Ácido linolênico	C18:3	-11,0
Ácido araquidônico	C20:4	-49,0

Fonte: SCRIMGEOUR (2005); KAWAZOE (2014).

Os ácidos graxos insaturados são classificados em ômega-9 (ω -9), ômega-6 (ω -6) e ômega-3 (ω -3). A família ω -9 tem como principal representante o ácido oleico, a ω -6 é representada pelo ácido linoleico e a ω -3 é representada pelo ácido α -linolênico. Esta representação baseia-se no número de carbonos, número de duplas ligações e na posição em que a primeira dupla ligação ocorre a partir do grupo metil terminal (CH₃). Assim, por exemplo,

o ácido linolênico pode ser representado como 18:3 ω 3, onde: o número 18 indica a existência de 18 carbonos, 3, a existência de 3 duplas ligações e, ω 3, indica que a primeira dupla ligação está localizada no carbono 3, a partir do grupo metil (ω -3) (MORETTO et. al., 2002, MARTIN et al., 2006).

Na Figura 2, encontram-se representados alguns dos ácidos graxos poli-insaturados das séries ω -9, ω -6 e ω -3.

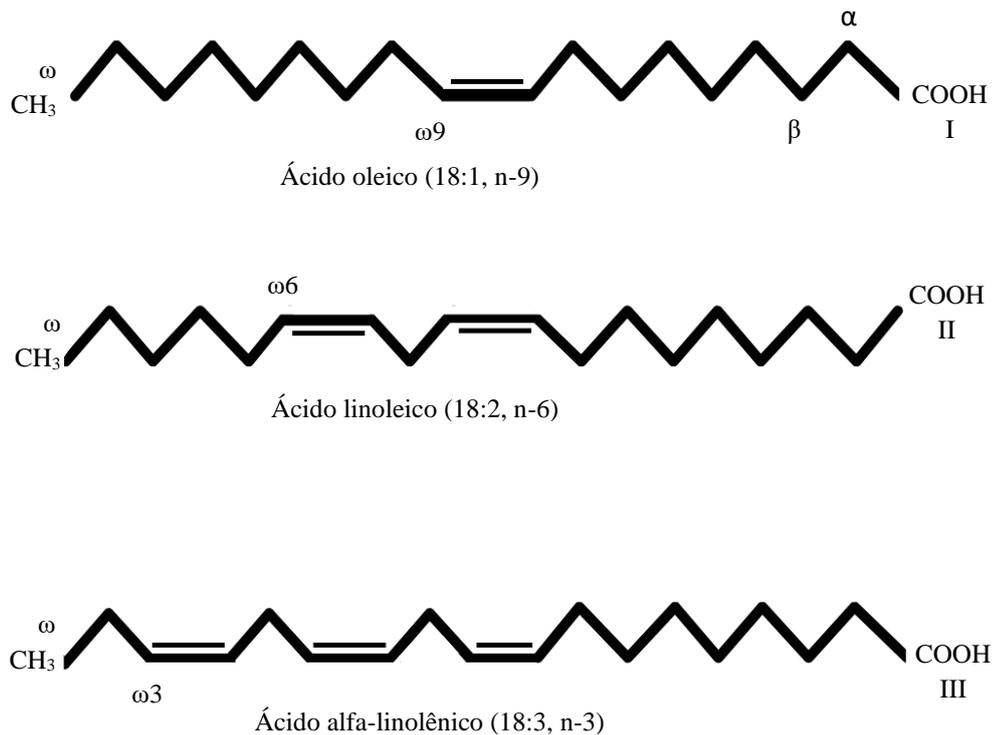


Figura 2 - Ácidos graxos poli-insaturados das séries ω -9, ω -6 e ω -3.

Pesquisas têm demonstrado efeitos benéficos dos ω -3 à saúde: no metabolismo lipídico, provocando uma diminuição nos níveis plasmáticos dos triacilgliceróis e um aumento da HDL (lipoproteína de alta densidade), possuem também uma ação anti-inflamatória, provocada pela diminuição da síntese de potentes mediadores químicos da inflamação, derivados do ácido araquidônico: prostaglandina E2 (PGE2), tromboxano A2 (TXA2), prostaciclina (PGI2) e leucotrieno B4 (LTB4) (MOZAFFARIAN; WU, 2011; KROMHOUT et al., 2012).

Os ácidos graxos ω 6 e ω 3 competem pelas mesmas enzimas no fígado, que os alongam e desnaturam para gerarem seus respectivos poli-insaturados. Por essa razão, estes devem estar em equilíbrio na alimentação. Pesquisas demonstram que uma relação ω 6: ω 3 de 5:1 é a mais

adequada para que sejam melhor aproveitados pelo organismo (MARSZALEK; LODISH, 2005; HEIRD; LAPILLONNE, 2005). Além disso, a ingestão de quantidades adequadas auxilia o organismo na proteção contra doenças crônicas, como as doenças cardiovasculares (FAO, 2010).

Na alimentação humana, as principais funções dos lipídios são: fornecer ácidos graxos para produção de energia, através da β -oxidação em nível celular, necessária à realização de todos os processos de biossíntese pelo corpo humano, uma vez que, 1 g de gordura fornece aproximadamente 9,3 kcal, já os carboidratos e proteínas fornecem cerca de 4 kcal/g; fornecer ao organismo compostos orgânicos como os ácidos graxos essenciais, vitaminas lipossolúveis (A, D, E, K), hormônios (esteróis), entre outros (TURATTI; PASTORE, 1999).

O consumo excessivo de óleos ou gorduras contendo ácidos graxos saturados com cadeias de 12 a 16 carbonos pode aumentar a concentração de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) no sangue e elevar o risco de doenças cardiovasculares (SCHAEFER, 1997; RODRIGUEZ-CONCEPCION et al., 2018). O ácido esteárico, porém, é considerado neutro em relação a seu efeito nos lipídios do sangue (KRIS-ETHERTON et al., 2005), enquanto que os ácidos graxos monoinsaturados e poli-insaturados tendem a apresentar uma relação inversa com a incidência de doenças coronarianas (BINKOSKI et al., 2005).

Os óleos vegetais, além de diferirem entre si no grau de insaturação e composição em ácidos graxos, diferem também na quantidade e qualidade de compostos presentes em sua matéria insaponificável. Estas diferenças influenciam diretamente a estabilidade oxidativa e as características sensoriais e tecnológicas de cada tipo de óleo (RODRIGUEZ- CONCEPCION et al., 2018).

A estabilidade oxidativa é uma propriedade importante dos óleos e gorduras e é expressa como o tempo necessário para a formação dos produtos secundários de oxidação, que são detectados sob diferentes condições. Este período é conhecido como o tempo de indução (PARDAUIL et al., 2011). A estabilidade oxidativa depende do número e posição das ligações duplas. Como os hidrogênios alílicos são mais suscetíveis à oxidação, essa característica é afetada pela composição de ácidos graxos, presença de antioxidantes, oxigênio, luz e temperatura de armazenamento (MERRILL et al., 2008; FREIRE et al., 2012).

Em geral, as gorduras apresentam melhor estabilidade oxidativa em comparação aos óleos, isso deve-se ao maior teor de ácidos graxos do tipo saturados e/ou monoinsaturados e menor teor de ácidos graxos poli-insaturados presentes, tornando-as menos susceptível à oxidação (CHOE; MIN, 2006).

Além dos triacilgliceróis, mono e diacilgliceróis, outros componentes estão presentes nos lipídios, tais como ácidos graxos livres, fosfolipídios, pigmentos e ceras, além de numerosos compostos bioativos (KAMAL-ELDIN, 2006). Compostos bioativos são aqueles capazes de proporcionar benefícios à saúde, prevenindo ou tratando doenças ou mesmo favorecendo o funcionamento do organismo (PARRA; DUAILIBI, 2002; RODRIGUEZ-CONCEPCION et al., 2018). Além dos ácidos graxos essenciais, óleos e gorduras vegetais vêm recebendo destaque por terem mostrado ser importantes fontes de outros compostos bioativos como tocoferóis, carotenoides, compostos fenólicos e fitosteróis (CHAIYASIT, 2007; TEXEIRA et al., 2013; SANTOS et al., 2022a).

3.2.2. Mercado

Observa-se um aumento progressivo do mercado de óleos vegetais, devido principalmente à diversidade na composição química, a depender da fonte oleaginosa, que aumenta a abrangência de aplicação em diversos setores industriais. Outro fator relevante, é o progresso das engenharias (genética, química, alimentos), resultando na expansão de fronteiras agrícolas, aumento de teor de óleos, entre outros avanços tecnológicos, os quais reduzem os custos de cultivo e processamento de espécies oleaginosas (SERRA et al., 2019; OLIVEIRA et al., 2021; USDA, 2022).

A oferta mundial de óleo vegetal excedeu 210 milhões de toneladas, no período de 2021/2022, representando um aumento de 41,59 % desde 2010. O Brasil ocupa o topo da tabela de produção de oleaginosas (com destaque para soja), a sexta posição na produção de óleos vegetais e o terceiro lugar do ranking global de produção de óleo de soja, estando atrás somente da China e Estados Unidos (USDA, 2022).

Na Tabela 2, pode-se verificar que a produção mundial de óleos vegetais é crescente.

Tabela 2 - Produção mundial dos principais óleos e gorduras vegetais comercializados.

Em milhões de toneladas

Óleos	2010/2011	2011/2012	2020/2021	2021/2022
Palma	48,84	52,11	73,14	76,26
Soja	41,30	42,60	59,19	59,13
Canola	23,47	24,12	29,18	28,85
Girassol	12,42	14,87	19,04	19,55
Palmiste	5,73	6,13	8,39	8,85
Algodão	4,96	5,21	4,79	4,97
Amendoim	5,33	5,31	6,41	6,50
Coco	3,71	3,41	3,46	3,59
Oliva	3,25	3,24	2,93	3,29
Total	149,01	157	206,53	210,99

Fonte: USDA (2022).

Os principais óleos vegetais comercializados mundialmente, são: palma (dendê), óleo de soja, canola e girassol (USDA, 2022) . Estima-se que aproximadamente 80 % dessa produção é destinada a aplicações alimentícias, e os outros 20 % restantes para outras finalidades. Dentre as aplicações alimentícias, pode-se citar o uso como óleo de cozinha, ou na produção de margarinas, sorvetes, bolachas, etc. Outras utilidades industriais de óleos vegetais são: produção de cosméticos, tintas e vernizes, medicamentos, produtos de limpeza, revestimentos, plásticos, lubrificantes e biocombustíveis. Tanto para alimentos quanto para outras aplicações, a composição de ácidos graxos dos óleos determina sua utilidade e, portanto, seu valor comercial. Devido à importância econômica de óleos e gorduras vegetais, muitas informações acerca da composição de ácidos graxos de sementes oleaginosas são investigadas (KINNEY, 2006; KAWAZOE, 2014; SHAHBANDEH, 2021).

Atrelado ao mercado, está a demanda crescente por óleos e gorduras com ênfase em alimentos saudáveis e novos usos industriais, aumentando o interesse por fontes alternativas de óleos vegetais (DORNI et al., 2018).

3.2.3. Óleos e gorduras vegetais amazônicas

Há uma tendência mundial pelo estudo de novas matrizes oleaginosas monoinsaturadas e de ácidos graxos poli-insaturados, fomentando a pesquisa por fontes alternativas de óleos e gorduras com atributos nutricionais e farmacêuticos que atendam aos diferentes setores industriais (BEZERRA et al., 2017; SILVA et al., 2019; HU, et al., 2019; SANTOS et al., 2022a; TILAHUN et al., 2022).

Na Amazônia, muitas espécies vegetais apresentam sementes oleaginosas, das quais se extraem óleos com diversas composições químicas e propriedades físico-químicas e que

possuem potencial econômico, tecnológico e nutricional, despertando o interesse de estudos científicos em distintas áreas, como na fabricação de produtos farmacêuticos, alimentos, produtos de cuidados da pele e combustíveis renováveis, entre outros (PARDAUIL et al., 2011; SANTOS et al., 2012; BEZERRA et al., 2017; SILVA et al., 2019; SANTOS et al., 2022a).

O cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*), cacau (*Theobroma cacao*), castanha do Brasil (*Bertholletia excelsa*), tucumã (*Astrocaryum tucuma*), andiroba (*Carapa guianensis*), babaçu (*Orbignya oleifera*), buriti (*Mauritia flexuosa*), murumuru (*Astrocaryum murumuru*), pracaxi (*Pentaclethra maculoba*), ucuúba (*Virola surinamensis*) e urucum (*Bixa orellana*) são exemplos representativos de espécies vegetais amazônicas de grande importância econômica, devido a extração de lipídeos da semente ou da polpa, que apresentam variadas aplicações na indústria de cosméticos, farmacêutica ou de alimentos (PESCE, 2009; SILVA et al., 2019; SANTOS et al., 2022a).

A extração de óleos de espécies vegetais amazônicas, se dá principalmente, via prensagem mecânica, em pequenos estabelecimentos. Devido às questões de sustentabilidade ambiental e políticas de inclusão produtiva dos agricultores familiares ou de pequenos produtores, há o estímulo para o uso de técnicas de baixo consumo de insumos (químicos ou biológicos) e de redução da geração de resíduos tóxicos (IPEA, 2012; LIRA et al., 2021; SANTOS et al., 2022b).

A diversificação de fontes para obtenção de óleo é também estimulada por políticas públicas, a exemplo da política de garantia de preços mínimos para os produtos da sociobiodiversidade (PGPM-Bio), cujo objetivo é apoiar a comercialização de produtos florestais nativos e não madeireiros, para a oferta de matéria-prima à indústria de fármacos, cosméticos, higiene pessoal, biocombustíveis, entre outras (CONAB, 2017). Nesse contexto, o principal mercado de óleos e manteigas (nome comercial dado às gorduras vegetais) amazônicas, é o de cosmético, um dos mais crescentes, devido ao grande potencial em ativos dessas matrizes oleaginosas, que geram inúmeros produtos de cuidados com a pele, cabelos, etc (ARAÚJO et al., 2007; LIRA et al., 2021).

3.2.3.1 Gordura de cupuaçu

A semente de cupuaçu tem recebido atenção devido ao seu potencial tecnológico, especialmente quanto sua composição de lipídios (COSTA et al., 2017; PEREIRA et al., 2018).

A Tabela 3, apresenta a composição centesimal da semente do cupuaçu.

Tabela 3- Composição centesimal de semente de cupuaçu (CARVALHO et al., 2005; SILVA et al., 2018).

Composição (%)	CARVALHO et al. (2005)	SILVA et al. (2018)
Umidade	-	2,10
Proteínas	9,4	10,13
Lipídios totais	64,9	45,30
Fibra insolúvel	3,3	-
Cinzas	2,9	3,1

Conforme demonstrado na Tabela 3, as sementes de cupuaçu contêm alto teor lipídico, a partir das quais se extrai uma gordura com características semelhantes à manteiga de cacau e com potencial para ser utilizada na fabricação do cupulate (produto com características nutritivas similares ao chocolate, desenvolvido e patenteado pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA) e outros derivados (NAZARÉ et al., 1990; CUCAITA et al., 2014).

Na fabricação de chocolate, pode-se utilizar até 5 % em peso da gordura de cupuaçu, sem alterações das características sensoriais. Já na produção de cupulate, há uma total substituição da manteiga e do macerado das amêndoas (liquor) do cacau pela do cupuaçu. (LUCCAS et al., 2001). A utilização dessa gordura natural desprovida de ligações trans, pode ainda substituir a gordura hidrogenada na elaboração de bolos e sorvetes (GILABERT-ESCRIVÁ, 2002; OLIVEIRA et al., 2021).

A gordura de cupuaçu, apresenta um conteúdo equilibrado de ácidos graxos monoinsaturados e saturados, com maiores concentrações de ácido oleico e esteárico, respectivamente (BEZERRA et al, 2017; SERRA et al, 2019; OLIVEIRA et al., 2021).

Na Tabela 4, estão dispostos os principais ácidos graxos presentes na gordura de cupuaçu.

Tabela 4- Composição de ácidos graxos da gordura de cupuaçu (BEZERRA et al., 2017; SERRA et al., 2019).

Ácidos graxos	BEZERRA et al.	SERRA et al.
----------------------	-----------------------	---------------------

	(2017)	(2019)
Saturados	%	%
Ácido caprílico (C8:0)	0,02	0,01
Ácido cáprico (C10:0)	0,02	0,05
Ácido láurico (C12:0)	0,6	0,02
Ácido mirístico (C14:0)	0,2	0,07
Ácido palmítico (C16:0)	7,5	7,37
Ácido margárico (C17:0)	0,1	0,17
Ácido esteárico (C18:0)	31,6	33,91
Ácido araquídico (C20:0)	0,2	0,1
Ácido beênico (C22:0)	2,0	0
Monoinsaturados	%	%
Ácido palmitoleico (C16:1, ω -7)	0	0,08
Ácido oleico (C18:1, ω -9)	41,6	43,17
Poli-insaturados	%	%
Ácido linoleico (C18:2, ω -6)	5,2	3,67
Ácido linolênico (C18:3, ω -3)	11,5	11,37
SFA	42,2	41,7
MUFA	41,6	43,25
PUFA	16,7	15,04

Nota: SFA: ácidos graxos saturados; MUFA: ácidos graxos monoinsaturados; PUFA: ácidos graxos poli-insaturados.

A composição de ácidos graxos do tipo monoinsaturado presente na gordura, confere ao produto um baixo ponto de fusão, (aproximadamente 33 °C) proporcionando maciez e plasticidade à gordura (CARVALHO et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2021). Devido à concentração de ácidos graxos saturados (na proporção aproximada de 42 %), esta gordura apresenta uma boa estabilidade térmica e oxidativa (BEZERRA et al, 2017; SERRA et al, 2019).

Para obtenção dessa gordura comercial, as sementes despulpadas de cupuaçu passam pelos seguintes processos: fermentação, lavagem em água corrente, secagem ao sol, torra e finalmente a prensagem mecânica a quente (principal método de extração aplicado nessa matriz), que resulta na manteiga de cupuaçu, de cor variando do branco a amarelo claro e aparência sólida/macia a temperatura ambiente (NAZARÉ et al., 1990; ARAÚJO et al., 2007; BARROS et al., 2016)

As indústrias de cosméticos têm descoberto e comprovado as potencialidades da manteiga de cupuaçu, como suas propriedades emoliente, hidratante e cicatrizante, que possibilitam a redução considerável do processo de desidratação e envelhecimento da pele, bem

como o tratamento de dermatites e ulcerações, sendo um ativo em crescente demanda nesse setor (ARAÚJO et al., 2007; BEZERRA et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2021).

3.3 EXTRAÇÃO DE ÓLEOS E GORDURAS

Os processos industriais convencionais utilizados na produção de óleo consistem de prensagem contínua ou hidráulica e/ou extração por solventes. A matéria-prima e a escala determinam o melhor processo de extração, visto que o método utilizado pode influenciar nos custos do processo e na qualidade final do produto (RIBEIRO et al., 2016; SANTOS et al., 2022b).

A extração química com solvente é um dos métodos mais utilizados nas indústrias de grande porte, devido ao elevado rendimento de óleo (acima de 90 %) obtido nesse processo. No entanto, o óleo resultante pode apresentar qualidade comprometida, devido aos extensos processos de recuperação do solvente e a extração de componentes indesejados das paredes celulares. Além disso, muitos solventes orgânicos utilizados, são altamente tóxicos e inflamáveis, o que remete à geração de efluente com alto potencial de riscos para o meio ambiente e à saúde humana (SOH; ZIMMERMAN, 2011; ADAM et al., 2012; RIBEIRO et al., 2016; LIRA et al., 2021). Essa técnica é indicada para oleaginosas com baixo teor de lipídios, e é muito utilizada para extração de óleo de soja (PIPOLO et al., 2015).

A extração de óleos por prensagem mecânica, normalmente, é utilizada em pequena escala de produção, para matérias-primas com baixa umidade (abaixo de 10%) ou que possuem elevado teor de óleo, já que este processo gera resíduo (pós-prensagem) com alto teor lipídico. Esse método de extração é indicado para sementes de amêndoas em geral, amendoim, girassol, cacau, cupuaçu, castanha do Pará, entre outras (ANTONIASSI et al., 2013; LIRA et al., 2021). Os equipamentos utilizados, vão desde os artesanais até os industriais, como as prensas contínuas, tipo “expeller”. As prensas do tipo contínua, apresentam maior capacidade de produção, mão-de-obra reduzida e menor investimento quando comparado com extração por solvente (AKOH; MIN, 2007; MENDONÇA et al., 2020).

A Figura 3, resume algumas características dos principais métodos de extração de óleo adotados pelas indústrias.

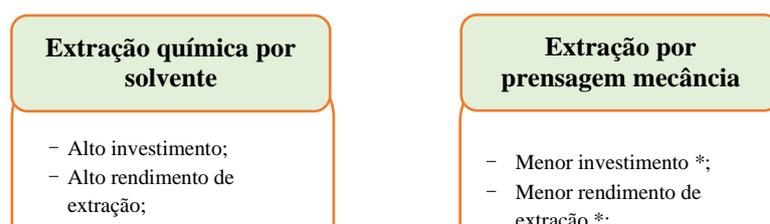




Figura 3 - Características do principais métodos de extração de óleos.

As características do óleo podem mudar conforme o método de extração empregado, tendo em vista que as suas propriedades químicas poderão ser totalmente alteradas a depender das condições a qual ele é submetido. As altas temperaturas, longa exposição térmica, tempo de tratamento, irradiação e alta concentração de oxigênio afetam as propriedades físico-químicas dos óleos (RIBEIRO et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2021).

Processos de extração alternativos e promissores, vêm sendo estudados, como por exemplo, a extração aquosa assistida por enzima, despertando interesse como uma alternativa tecnológica ambientalmente amigável para extração de óleo vegetais (SEKHON et al., 2015; FERREIRA et al., 2018; DÍAZ-SUÁREZ, et al., 2021; SANTOS et al., 2022a).

3.3.1 Extração aquosa enzimática

A extração aquosa assistida por enzimas é uma técnica ambientalmente correta, que emprega enzimas que hidrolisam e quebram as paredes celulares do material, tornando sua estrutura mais permeável, liberando o conteúdo lipídico. Essa técnica não gera passivos ambientais de alto impacto, e apresenta outras vantagens, como: o consumo de pouca energia, redução ou eliminação da aplicação de solventes orgânicos, utilização de temperaturas brandas, o que evita a degradação de compostos termossensíveis (como pigmentos e antioxidantes), resultando em produtos de alta qualidade nutricional e sensorial (YUSOFF et al., 2017; NGUYEN et al., 2020; SANTOS et al., 2022a).

De forma geral, na extração aquosa de matrizes oleaginosas, a matéria-prima é submetida a um pré-tratamento que, normalmente, consiste na trituração, diluição e

aquecimento para inativação das enzimas naturais presentes. Na sequência, a mistura é transferida para um reator onde a enzima é adicionada ao substrato mantido sob incubação, seguido de centrifugação e separação do óleo (TEIXEIRA et al., 2013; SILVA, et al., 2019; SANTOS et al., 2022a).

Diversas pesquisas têm sido realizadas com o uso de enzimas na extração de óleos vegetais. A Tabela 5, apresenta como os processos foram conduzidos e os rendimentos alcançados nos diferentes estudos.

Tabela 5 – Resultados de pesquisas realizadas com uso de enzimas na extração de óleos vegetais.

Referência	Matéria-prima	Enzima	E (%)	T (h)	R (%)
Jiang et al. (2010)	Amendoim	Protease	1,5	5	73,45
Teixeira et al. (2013)	Dendê	Pectinase, celulase e tanase	4	1	81,15
Jiao Jiao et al. (2014)	Semente de abóbora	Celulase, pectinase e protease	1,4	1,09	64,17
Ribeiro et al. (2016)	Gergelim	Pectinase e protease	10	8	36,65
Silva et al. (2019)	Buriti	Celulase, pectinase e protease	2	6	77,50
Díaz-Suárez et al. (2021)	Mamona	Celulase, pectinase, hemicelulase e carboidrase	2	4	80,00
Santos et al. (2022a)	Tucumã-í-da-várzea	Celulase e pectinase	1	6	81,51

E: Porcentagem de enzima em relação a massa da amostra (% m/v); T: Tempo de incubação (h); R: Rendimento de óleo extraído (%)

Para extração de azeite de oliva, preparações comerciais enzimáticas contendo pectinases, celulasas e hemicelulasas são utilizadas, sendo adicionadas durante a etapa de

prensagem das azeitonas para melhorar o processo de extração (BHAT, 2000; KAYSHAP, 2001). A aplicação em escala comercial desta tecnologia está restrita apenas à produção do azeite de oliva devido ao alto valor agregado, relacionado à alta concentração de compostos bioativos como polifenóis presentes no produto extraído por processo enzimático (TEXEIRA et al., 2013).

3.3.2 Enzimas

A seleção das enzimas para extração de óleos e gorduras, requer o conhecimento da composição do tecido vegetal da oleaginosa a ser processada. Tendo em vista que a parede celular é composta de diferentes polissacarídeos ligados a uma proteína estrutural, o extrato enzimático deve conter enzimas com diferentes atividades (GOMES et al., 2002; TEXEIRA et al., 2013).

As enzimas mais comumente relatadas na literatura para extração de óleos vegetais, são: celulases, pectinases, hemicelulases e proteases (JIANG et al., 2010; SILVA, et al., 2019; DÍAZ-SUÁREZ, et al., 2021; SANTOS et al., 2022a).

3.3.2.1 Celulase

A classificação das celulases, de acordo com seu local de atuação no substrato celulósico, as divide em três grandes grupos: endoglucanases (EnG), que clivam ligações internas da fibra celulósica; exoglucanases (ExG), que atuam na região externa da celulose; e beta-glicosidases (BG), que hidrolisam oligossacarídeos solúveis em glicose (CASTRO; PEREIRA, 2010; NARRA et al., 2014).

A endoglucanase, que está classificada como EC 3.2.1.4, possui como nome sistemático, 1,4- β -D-glucana-4-glucanohidrolase. É a enzima responsável por iniciar a hidrólise. A qual hidrolisa randomicamente as regiões internas da estrutura amorfa da fibra celulósica, liberando oligossacarídeos de diversos graus de polimerização (GP) e novos terminais (OLSSON, 1996). A EnG é a enzima celulolítica responsável pela rápida solubilização do polímero celulósico, devido à sua fragmentação em oligossacarídeos (FARINAS, 2011).

O grupo das exoglucanases (ExG) é constituído por celobiohidrolase (CBH) e glucanohidrolase (GH) (OLSSON, 1996).

A GH (EC 3.2.1.74), conhecida como 1,4- β -D-glucano-hidrolase, possui estratégia de hidrólise da fibra celulósica de elevada importância, pois é capaz de liberar glicose diretamente do polímero (OLSSON, 1996).

A CBH (EC 3.2.1.91) chamada de 1,4- β -D-glucana-celobio-hidrolase, é catalisadora da hidrólise apenas dos terminais não-redutores da fibra celulósica e oligossacarídeos com GP>3 em celobiose (OLSSON, 1996; KALIA et al., 2001). A CBH participa da hidrólise primária da fibra e é responsável pela ruptura física do substrato, acarretando na desestratificação das fibras, pelo aumento das regiões intersticiais (OGEDA, 2010).

A CBH ainda pode ser dividida em dois tipos: enzima do tipo I (CBH I), que hidrolisa terminais redutores, enquanto que a do tipo II (CBH II), hidrolisa terminais não redutores. Essas enzimas geralmente sofrem inibição pelo seu produto de hidrólise (celobiose) (CASTRO; PEREIRA, 2010).

O terceiro e último grande grupo de enzimas do complexo celulolítico engloba a β -glicosidase, ou β -glicosídeo gluco-hidrolase (EC 3.2.1.21), que é seu nome sistemático. A BG tem a propriedade de hidrolisar celobiose e oligossacarídeos solúveis (GP<7) em glicose. Assim como a CBH, também é reportada com a característica de sofrer inibição por seu produto de hidrólise (OLSSON, 1996; CASTRO; PEREIRA, 2010).

No mercado industrial, a celulase ocupa uma posição de destaque entre as enzimas comercializadas. A forte demanda da celulase é atribuída às suas diferentes aplicações industriais como: extração de proteína de soja, óleos essenciais, aromatizantes, utilização na indústria têxtil, no mercado de detergentes, na indústria de alimentos, na indústria de polpa e de papel, no tratamento de resíduos e na produção de bioetanol de segunda geração (SINGHANIA et al., 2010; KARMAKAR et al., 2011; YOON et al., 2014; FACCIOLI et al., 2020).

As celulases comerciais são produzidas, em sua maioria, pelos fungos filamentosos *Trichoderma reesei* ou *Aspergillus niger* por fermentação submersa (CHUNDAWAT et al., 2011).

3.3.2.2 Pectinase

As pectinases são um grupo de enzimas que degradam substâncias pécticas hidrolisando as ligações glicosídicas ao longo da cadeia carbônica. Podem ser despolimerizantes ou desesterificantes e são produzidas por plantas, fungos filamentosos, bactérias e leveduras (UENOJO; PASTORE, 2007).

Devido à grande diversidade de pectinas nas plantas e sua conseqüente complexidade, são necessárias diferentes pectinases com diversas formas de ação: poligalacturonase, pectinesterase, pectinaliase e pectatoliase (PAL) (MARTOS, 2013).

As pectinases são classificadas com base no ataque ao esqueleto galacturônico, preferência ao substrato, ação por transeliminação ou hidrólise e por clivagem randômica ou terminal, como:

a) Desesterificante ou desmetoxilante: removem os grupos metil-éster, como, por exemplo, a pectinoesterase (PE) (SANTI et al., 2014).

b) Despolimerizantes: catalisam a clivagem das ligações glicosídicas das substâncias pécticas, como por exemplo, hidrolases (polimetigalacturonases e poligalacturonases) e as liases (pectina liase) (SANTI et al., 2014).

c) Protopectinases: solubilizam a protopectina para formar pectina (YADAV et al., 2009).

As pectinases comerciais, são produzidas por fungos, especialmente do gênero *Aspergillus* e são amplamente utilizadas nas indústrias. No setor de produção de alimentos, algumas das aplicações das pectinases incluem, na extração, clarificação e despectinização de sucos de fruta, maceração de vegetais para produção de pastas e purês, fabricação de vinhos, fermentação de chá e chocolate, tratamento de resíduos vegetais, enriquecimento proteico de alimentos infantis, entre outras utilidades (MURAD; AZZAZ, 2011; FACCIOLI et al., 2020).

3.3.2.3 Protease

As proteases (EC 3.4) pertencem ao grupo das hidrolases que catalisam a reação de ligações peptídicas das proteínas e podem apresentar atividade sobre as ligações éster e amida (KOBLOITZ, 2010). Essas enzimas, conduzem modificações seletivas específicas em proteínas e na maioria dos casos, a proteólise é direcionada e limitada à clivagem de ligações peptídicas específicas da proteína (BEYNON; BOND, 1996; TAVANO et al., 2018).

Segundo a União Internacional de Bioquímica (IUB) as enzimas proteolíticas classificam-se em seis grupos de acordo como o tamanho molecular, propriedades elétricas, com a sua especificidade ao substrato e modo de ação (BEYNON; BOM, 1996). São classificadas pelo modo de ação em exopeptidases (atuam nas extremidades das cadeias polipeptídicas) e endopeptinases (agem nas ligações no interior da cadeia proteica). As exopeptidases dividem-se em: aminopeptidases, carboxipeptidases, serina-proteases, cisteína-proteases ou proteases sulfidrílicas, proteases aspárticas ou ácidas e metanol-proteases. As endopeptinases são subdivididas em serina, cisteína, aspártico, metalo e treonina-endopeptidases (KOBLOITZ, 2010).

As proteases constituem um dos mais importantes grupos de enzimas comerciais, com aplicações em diferentes setores industriais, como de alimentos, durante o amaciamento de carnes; em indústria farmacêutica no desenvolvimento de medicamentos; na indústria de produtos de limpeza, como na potencialização de detergentes; na indústria de couros, durante de remoção de pelos; no ramo da estética, como no procedimento peeling. As proteases obtidas por micro-organismos do gênero *Bacillus*, formam o grupo mais importante de enzimas produzidas comercialmente (GENCKAL; TARI, 2005; KOBLOITZ, 2010; PATYSHAKULIYEVA, 2021).

A maioria das enzimas comerciais são obtidas de micro-organismos modificados, aceleram a maior parte dos processos bioquímicos, de baixo consumo energético, possuem baixa toxicidade e são altamente específicas para determinadas ações. Além disso, são capazes de alterar as características de variados tipos de resíduos sem o uso de altas temperaturas, solventes orgânicos e extremos de pH, oferecendo, ao mesmo tempo, maior especificidade na reação, pureza no produto e redução no impacto ambiental (MUSSATTO et al., 2007; TEXEIRA et al., 2013; SANTOS et al., 2022a).

3.4 COMPOSTOS FENÓLICOS

Quimicamente, os compostos fenólicos compreendem um amplo grupo de substâncias classificadas como metabólitos secundários em plantas, caracterizados por conterem em sua estrutura no mínimo um anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos, incluindo grupos funcionais tais como ésteres, ésteres metílicos e glicosídeos (SHAHIDI; NACZK, 1995; APAK et al., 2007; HAMINIUK et al., 2012). Mais de 8.000 estruturas de compostos fenólicos são conhecidas, variando desde moléculas simples, tais como os ácidos fenólicos, até substâncias altamente polimerizadas como os taninos (DAI; MUMPER, 2010).

A diversidade estrutural dos compostos fenólicos resulta da grande variedade de esqueletos carbônicos dentro desse grupo de composto, bem como das várias modificações de substituintes primários e secundários (LEWANDOWSKA et al., 2013). Com base no número de anéis aromáticos e elementos estruturais que ligam estes anéis uns aos outros, os compostos fenólicos podem ser classificados em polifenóis, fenóis simples e ácidos (CHEYNIER et al., 2013; QUIRÓS-SAUCEDA et al., 2014; APAK et al., 2007).

Os compostos fenólicos podem estar associados com carboidratos, lipídeos, ácidos orgânicos, aminas e componentes da parede celular (celulose, hemiceluloses e lignina) (QUIRÓS-SAUCEDA et al., 2014; VELDERRAIN-RODRÍGUEZ et al., 2014). Os polifenóis são comumente encontrados tanto na parte comestível quanto na não comestível de plantas e apresentam um papel importante na qualidade de frutas, devido à sua contribuição no paladar (amargor e adstringência), cor e propriedades funcionais (CHEYNIER, 2005; GHARRAS, 2009).

As principais fontes de compostos fenólicos na dieta humana são frutas, vegetais e bebidas, entre outros (LANDETE, 2012). O teor destes compostos presentes nos vegetais é dependente do grau de maturação, variedade, clima, composição do solo, localização geográfica e condições de armazenamento, dentre outros fatores (HAMINIUK et al., 2012).

Em sementes oleaginosas, os ácidos fenólicos são os compostos encontrados com maior frequência, incluindo os ácidos cafeico, gálico, vanílico, ferúlico, p- cumárico, protocateico, p-hidroxibenzoico, sinápico, gentísico e p-hidroxifenilacético (ZAMBIAZI; ZAMBIAZI, 2000).

Os óleos vegetais comerciais apresentam pequenas quantidades de compostos fenólicos, uma vez que grande parte destes é removida durante as etapas de refino. Exceção é o azeite de oliva virgem que contém quantidades significantes de fenólicos, sendo fonte de, pelo menos, trinta compostos diferentes (TUCK; HAYBALL, 2002).

Além dos fatores sensoriais e tecnológicos, os polifenóis têm obtido grande destaque devido, principalmente, às suas propriedades antioxidantes. A atividade antioxidante de

compostos fenólicos deve-se principalmente às suas propriedades redutoras e estrutura química. Estas características desempenham um papel importante na neutralização ou sequestro de radicais livres e quelação de metais de transição, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo. Os intermediários formados pela ação de antioxidantes fenólicos são relativamente estáveis, devido à ressonância do anel aromático presente na estrutura destas substâncias (TEIXEIRA et al., 2013).

A ação antioxidante dos compostos fenólicos apresenta um papel importante na redução da oxidação lipídica, pois quando incorporado na alimentação humana não conserva apenas a qualidade dos alimentos mas também reduz o risco de desenvolvimento de patologias como doenças cardiovasculares, câncer, úlceras, processos inflamatórios, fragilidade vascular e infecções (MARTÍNEZ-VALVERDE et al., 2000; SOARES, 2002).

Silva et al. (2018), determinaram as concentrações de fenólicos totais em sementes de cupuaçu e tucumã, e obtiveram valores de 11.797 e 1.178,6 mg GAE/100g, respectivamente. A gordura da semente de cupuaçu apresentou grande quantidade de compostos fenólicos totais, podendo ser indicado como fonte dietética destes compostos.

Koolen et al. (2013), encontraram quantidades consideráveis de compostos fenólicos e o perfil fenólico indicou, principalmente, a presença de flavonoides na polpa de buriti. Ribeiro (2010) e Ferreira et al. (2011) determinaram os compostos fenólicos totais para óleo de buriti e observaram os valores de 303 e 309,9 µg EAG/g de óleo, respectivamente.

A composição de compostos fenólicos foi determinada em óleos de sementes de soja, girassol, canola, milho, uva, cânhamo, linhaça, arroz e abóbora obtidos por extração a frio. Os óleos de abóbora e cânhamo apresentaram as maiores concentrações com cerca de 2,5 mg de equivalentes de ácido cafeico por 100 g de óleo, e o óleo de sementes de uva apresentou a menor quantidade com 0,51 mg/100g. Nos óleos analisados foram quantificados os ácidos protocatecuico, p-hidroxibenzóico, vanílico, cafeico, p-cumárico, ferúlico e sinápico. O óleo de canola caracterizou-se pelo maior conteúdo de ácidos fenólicos (256,6 µg.100/g), especialmente ácido sinápico. Os demais óleos apresentaram concentrações de ácidos fenólicos substancialmente inferiores variando de 0,40, no óleo de arroz, a 22,1 µg/100g, no óleo de sementes de abóbora (SIGER et al., 2008).

3.5 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Os antioxidantes são substâncias que podem protelar ou impedir a oxidação de um substrato agindo na prevenção, interceptação e/ou no reparo contra a formação de substâncias nocivas às células ou tecidos (ROHENKOHL et al., 2011).

O potencial antioxidante de um composto é determinado pela reatividade do mesmo como doador de elétrons ou hidrogênio, sua capacidade de deslocar ou estabilizar elétrons desemparelhados e suas reatividades com outro antioxidante ou com o oxigênio molecular. Estas substâncias podem reduzir os danos adversos, desintegrando os oxidantes antes que estes reajam com os alvos biológicos, impedindo assim as reações em cadeia ou a ativação do oxigênio a produtos altamente reativos (MORAES; COLLA, 2006; MALTA, 2011).

A atividade antioxidante dos óleos e gorduras é determinada por sua composição físico-química e pela presença de compostos lipofílicos de natureza antioxidante. Os antioxidantes presentes em óleos vegetais atuam protegendo-os contra a ação de radicais livres, que levam a peroxidação lipídica, principal forma de degradação de óleos vegetais. Além da ação protetora ao próprio óleo, estes antioxidantes naturais apresentam bioatividade no organismo humano, com potencial na prevenção de doenças crônicas (SZYDŁOWSKA-CZERNIAK et al., 2008; CASTELO-BRANCO; TORRES 2011).

A formação de radicais livres está associada com o metabolismo normal das células aeróbias. O consumo de oxigênio inerente à multiplicação celular leva à geração de uma série desses radicais. A interação destas espécies com moléculas de natureza lipídica em excesso, produz novos radicais hidroperóxidos e diferentes peróxidos. A produção de radicais livres é controlada nos seres vivos por diversos compostos antioxidantes, os quais podem ter origem endógena ou serem obtidos pela dieta. Quando há limitação na disponibilidade de antioxidantes podem ocorrer lesões oxidativas de caráter cumulativo e os grupos de radicais podem interagir com os sistemas biológicos de formas citotóxicas (MORAES; COLLA, 2006; SOUSA et al., 2007).

Durante o processamento, antioxidantes naturais presentes nas sementes oleaginosas são separados em frações lipofílicas e hidrofílicas. A maioria dos antioxidantes lipofílicos é extraída com o óleo durante a prensagem e extração com solvente. Antioxidantes mais polares, no entanto, são parcialmente removidos durante a etapa de refino (SCHMIDT; POKORNÝ, 2005). Óleos prensados a frio, ou aqueles obtidos por processos que envolvam temperaturas mais amenas retêm altos níveis de antioxidantes naturais e, desta forma, apresentam elevada vida útil sem a adição de antioxidantes sintéticos, promovendo, ainda, benefícios à saúde (PARKER et al., 2003).

Para medir a capacidade antioxidante de alimentos e amostras biológicas, diferentes ensaios podem ser realizados. Os ensaios espectrofotométricos são adotados para medir a capacidade antioxidante de alimentos, sendo mais populares aqueles que utilizam os radicais 2,2 azobis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato) (ABTS) e o 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH). Além daquele que mede a capacidade de absorção de radicais de oxigênio (ORAC) e a capacidade de redução de íons ferro em plasma (FRAP). A maioria destes ensaios emprega o mesmo princípio, um composto radicalar sintético de cor ou oxi-redutor é gerado e a capacidade de uma amostra biológica para eliminar os radicais ou para reduzir o composto redox-ativo é monitorada por espectrofotômetro, juntamente com a aplicação de um padrão adequado para quantificar esta capacidade antioxidante, por exemplo, por equivalente de Trolox (TEAC) ou equivalente de vitamina C (VCEAC). Além disso, existem dois tipos básicos de mecanismos. Um deles baseia-se na transferência de elétrons e envolve a redução de um oxidante de cor, como o ABTS, DPPH e ensaio FRAP. O outro aborda uma transferência de átomo de hidrogênio, como no teste ORAC, em que os antioxidantes e o substrato competem termicamente pelos radicais peroxila gerados (FLOEGEL et al., 2011).

Os métodos mais comumente utilizados devido à facilidade, rapidez e sensibilidade são os que envolvem a medida do desaparecimento de radicais livres coloridos tal como o do ABTS (2,2 azobis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato)), por meio de espectrofotometria (FLOEGEL et al., 2011).

3.6 ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTICA

As técnicas termoanalíticas vêm adquirindo importância crescente em todas as áreas de conhecimento na química básica e aplicada. Esse incremento na utilização dessa metodologia, dotada de grande potencialidade, foi favorecido pela disponibilidade de instrumentos controlados por microprocessadores, capazes de fornecer resultados precisos quanto ao comportamento térmico dos materiais em tempo relativamente curto. Estes métodos são amplamente utilizados no controle de qualidade de óleos e gorduras vegetais, pois fornecem, com rapidez e eficiência, informações sobre a estabilidade do extrato oleoso, perante seu comportamento térmico (VOGEL, 2011).

A Termogravimetria (TG) é um método quantitativo, validado em termos de precisão, exatidão, robustez e limite de quantificação, onde, em condições controladas de gás ambiente e aumento de temperatura, fornece informações de alterações de massa ocorridas, sendo

representadas por curvas, nas quais obtém-se conclusões sobre a estabilidade térmica de uma amostra. Entretanto, quando se trata das faixas em que se têm as variações de massa, este método se torna também qualitativo, já que esse parâmetro é medido em função de fatores instrumentais e características das amostras (IONASHIRO, 2005; GIL, 2010).

A análise de TG dispõe de recursos que possibilitam o monitoramento do comportamento térmico de óleos e gorduras, estabilidade oxidativa, parâmetros de cinética, energia de ativação, como também determinar a fração de compostos voláteis presentes devido à variação de massa com o aumento de temperatura (CONI et al., 2004; SAAD et al., 2008). Essa variação de massa de uma amostra é resultante de uma mudança física (sublimação, evaporação, condensação) ou química, como a decomposição, degradação e oxidação (MOTHÉ; AZEVEDO, 2002).

Os resultados são apresentados na forma de uma curva TG, em que se registra a variação de peso em função da temperatura ou do tempo. A partir da curva TG, pode-se obter a curva DTG que consiste na derivada da TG. A DTG, por sua vez, mostra os dados de forma mais enfatizada, demonstrando o ponto inicial e final da decomposição e tornando as informações, visualmente, mais acessíveis (VOGEL, 2011).

3.7 ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

A espectroscopia na região do infravermelho (FTIR) é uma técnica de muita importância na análise orgânica qualitativa, sendo amplamente utilizadas nas áreas de química de produtos naturais, síntese e transformações orgânicas (COATES, 2000).

Esta técnica promove uma medição do comprimento de onda e intensidade da absorção de luz infravermelha, ocasionando uma energia suficiente para excitar vibrações moleculares a níveis de energia mais altos de uma amostra. A alta seletividade do método torna possível a estimativa de um analito em uma matriz complexa. Este método implica a análise dos movimentos de rotação e de vibração dos átomos em uma molécula (HOLLER, 2009).

A FTIR tem revolucionado as análises de amostras líquidas e sólidas, pois os soluciona os aspectos mais desafiadores da análise no infravermelho, como a preparação das amostras e a reprodutibilidade espectral. Destaca-se por utilizar pequena quantidade de amostra e por não envolver processos laboriosos no preparo destas, por essas características vem sendo largamente empregada na análise do lipídios (FERRÃO et al., 2011; GONÇALVES et al.,

2014). Além destas vantagens, a FTIR possui alta velocidade e capacidade de detectar vários tipos de componentes e robustez, porém, como desvantagem apresenta a impossibilidade de identificação direta dos grupamentos orgânicos, sendo realizado por meio de comparação com dados da literatura (SKOOG et al., 2002; ZHANG et al., 2015).

Durante o processo de análise de FTIR, a transmissão do sinal ocorre devido a um feixe de radiação eletromagnética que engloba a faixa espectral do infravermelho, passando através da amostra em análise, onde, cada uma das espécies moleculares constituintes absorve a radiação infravermelha a um conjunto específico de comprimentos de onda, que pode ser medida (RILEY et al., 2007). Desta forma, os espectros do FTIR descrevem um sinal químico da amostra contendo informações complexas onde as alterações na posição e intensidade das bandas no espectro estariam associadas às alterações na composição química de uma amostra (ROHAETI et al., 2015).

Com a utilização da técnica de FTIR, não se pode afirmar qual a composição química precisa de uma amostra, entretanto esta ferramenta é muito útil, especialmente, quando se objetiva identificar alterações na composição, por meio da comparação entre os grupos funcionais, como também discriminar espécies estreitamente relacionadas, assim, esta técnica tem sido amplamente utilizada no estudo de óleos e gorduras vegetais (GONÇALVES et al., 2014; POPESCU et al., 2015).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATÉRIA – PRIMA

As sementes de cupuaçu (20 kg), provenientes da safra de 2018, foram fornecidas pela Cooperativa dos Fruticultores de Abaetetuba (COFRUTA) (Abaetetuba - PA) e encaminhadas ao Laboratório de Medidas Físicas (LAMEFI) - Universidade Federal do Pará (UFPA / Belém), onde foram armazenadas à temperatura de -18 °C até a realização dos experimentos.

4.2 ENZIMAS

As enzimas utilizadas no processo de extração foram Celluclast® 1.5L (celulase) com 700 U.g⁻¹ de atividade EGU, Pectinex® Ultra SP-L (pectinase) com 3800 U.g⁻¹ de atividade PGNU e Alcalase® 2.4L FG (protease) com 2.4 U.g⁻¹ de atividade AU-A, gentilmente doadas pela empresa Novozymes® (Bento Gonçalves, RS).

4.3 CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA

4.3.1 Umidade e lipídios

As sementes foram caracterizadas quanto aos teores de umidade (método n° 925.10) e lipídios totais (método n° 922.06), em triplicata, de acordo com as metodologias oficiais da AOAC (2002).

4.3.2 Capacidade antioxidante

4.3.2.1 Preparo do extrato

Foi pesado 5 g da amostra de semente (previamente trituradas em liquidificador doméstico (Walita) e homogeneizadas) em um copo Becker de 100 mL e adicionado 40 mL de metanol 50 %. Essa solução foi homogeneizada e logo depois deixada em repouso por 60 minutos à temperatura ambiente. Na sequência, a amostra foi centrifugada a 10.000 g por 15 minutos, o sobrenadante foi filtrado (em papel filtro) e transferido para um balão volumétrico de 100 mL. A partir do resíduo da primeira extração, foi adicionado 40 mL de acetona 70 %, e

repetiu-se o procedimento na solução: homogeneização, repouso, centrifugação, filtração e o sobrenadante resultante foi transferido para o balão volumétrico que continha o primeiro sobrenadante. Para finalização do extrato, completou-se o volume do balão (100 mL) com água destilada.

4.3.2.2 Capacidade antioxidante pelo método ABTS

A determinação da atividade antioxidante da semente de cupuaçu foi baseada no método do radical ABTS, descrito por Re et al. (1999).

O cátion radical ABTS foi preparado a partir da reação de 5 mL da solução de ABTS 7 mmolL^{-1} com $88 \mu\text{L}$ da solução 140 mmolL^{-1} de persulfato de potássio ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$), e encubado na ausência de luz durante 16 horas, à temperatura ambiente. Após este tempo, a solução de ABTS foi diluída em álcool etílico até alcançar uma solução com absorvância de $0,70 \text{ nm} \pm 0,05 \text{ nm}$ a 734 nm . Sequencialmente, quatro pontos foram preparados para obtenção da curva de calibração do Trolox, onde os volumes do radical foram $0,5$; $2,5$; $5,0$; $7,5$ e 10 mL , diluídos para 10 mL de álcool etílico e comparadas com o branco. Ainda utilizando esses volumes, a partir do extrato obtido no item anterior, em ambiente escuro, transferiu-se uma alíquota de $30 \mu\text{L}$ de cada diluição do extrato para reagirem com 3 mL de solução de ABTS, após homogeneização, foi feita a leitura a 734 nm (após 6 minutos da mistura), utilizando álcool etílico, como branco, para calibrar o espectrofotômetro. Foi construída a curva padrão a partir dos valores de absorvância do Trolox, e os resultados foram expressos em μmolL^{-1} de equivalentes de Trolox por g de amostra ($\mu\text{molL}^{-1} \text{ trolox/g}$).

4.3.3 Fenóis totais

4.3.3.1 Preparo do extrato

As sementes de cupuaçu foram previamente trituradas em liquidificador doméstico (Walita) e homogeneizadas. Posteriormente, a amostra foi diluída em metanol 80 % na proporção de 3:10 (g/mL) em Erlenmeyer de 125 mL e colocada sob agitação (100 rpm) a temperatura de $50 \text{ }^\circ\text{C}$, durante 60 minutos. Na sequência, a amostra foi centrifugada a 4.000 g por 10 minutos e recolhido o sobrenadante. A fração metanólica recolhida, foi filtrada em papel

de filtro, lavada com 10 mL de hexano para remoção de interferentes lipídicos e armazenada em frasco de vidro âmbar.

4.3.3.2 Concentração de fenólicos totais

O teor de fenóis totais foi determinado pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu, segundo metodologia proposta por Singleton e Rossi (1965), em triplicata. O método colorimétrico baseia-se na capacidade de redução do ácido fosfomolibdico e fosfotúngstico pelas hidroxilas dos fenóis produzindo uma coloração azul.

Uma alíquota de 0,3 mL do extrato metanólico foi adicionada ao tubo teste, juntamente com 8,2 mL de água destilada e 0,5 mL do reagente de Folin Ciocalteu. A reação ficou em repouso por 5 minutos, para então ser acrescentado 1 mL de carbonato de sódio (Na_2CO_3) a 10 % (m/v). Em seguida, o tubo foi agitado e logo depois deixado em repouso por 60 minutos em ausência de luz. A leitura de absorbância foi realizada em espectrofotômetro utilizando comprimento de onda de 750 nm e os resultados foram expressos como μg de equivalente ácido gálico/g de amostra (μg EAG/g).

4.4 PROCESSO DE EXTRAÇÃO

4.4.1 Preparo das amostras

O preparo inicial das amostras foi realizado de acordo com processo ilustrado na Figura 4.

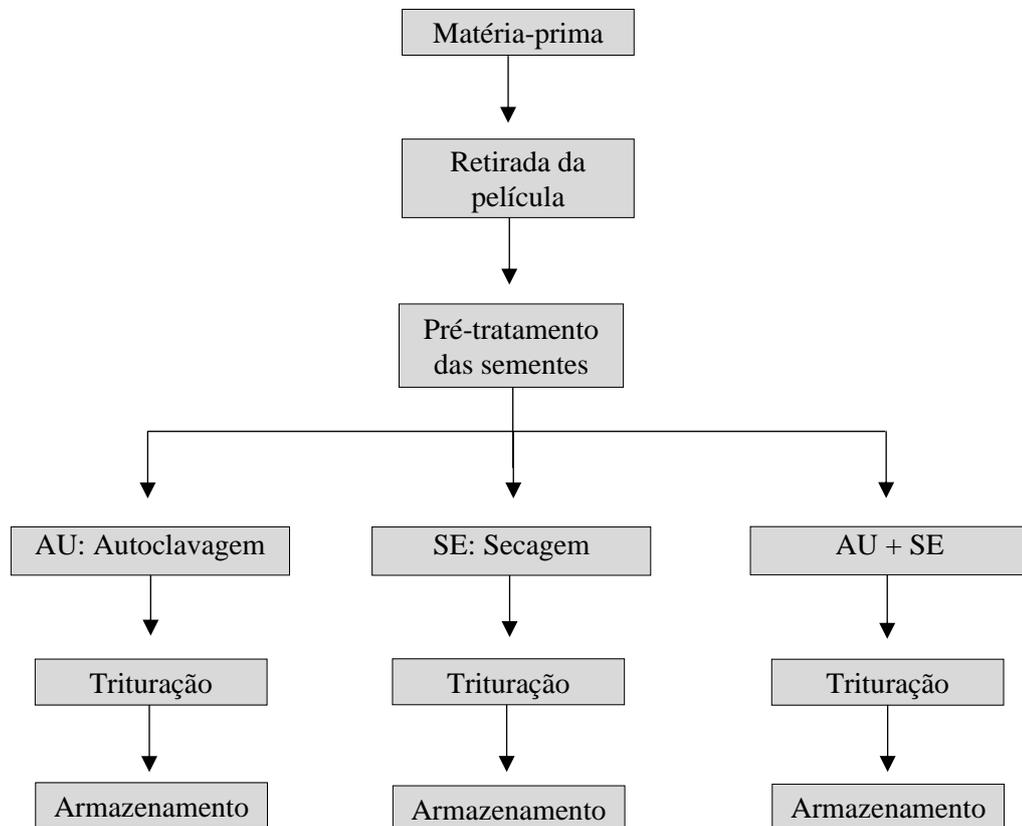


Figura 4 – Fluxograma do processo de preparo das amostras para posterior extração de gordura.

Todos os experimentos realizados, utilizaram o mesmo lote de sementes.

Inicialmente, as sementes foram descongeladas em temperatura ambiente, e na sequência, efetuou-se a retirada da película com auxílio de faca de aço inoxidável, objetivando a remoção do resto de polpa que fica aderida à semente após o processo de despulpamento.

4.4.1.1 Pré-tratamento das semente

As sementes foram submetidas à diferentes pré-tratamentos térmicos, a fim de selecionar aquele que apresentasse melhor eficiência, no processo de extração enzimática de gordura (uma amostra controle - CO, foi mantida sem tratamento).

Seguem apresentados os pré-tratamentos realizados:

- Autoclavagem (AU): A amostra destinada a autoclave foi acondicionada em embalagem flexíveis de polietileno e autoclavada, a temperatura de 121 °C por 1 minuto. O objetivo dessa etapa foi eliminar as enzimas lipases, peroxidases, polifenoloxidasas e as lipoxigensases responsáveis pela hidrólise dos triacilgliceróis, oxidação de polifenóis de vegetais frescos. Além disso, o calor aplicado nesse processo auxilia no rompimento da parede celular vegetal da semente, o que facilita a extração do óleo (TEXEIRA et al., 2013).

- Secagem (SE): A amostra foi distribuída em bandejas, e seca a temperatura de 60 °C, por aproximadamente de 18 h, com objetivo de reduzir a umidade do material (10 %), para facilitar a extração da gordura;

- Autoclavagem + secagem (AU + SE): Essa amostra foi submetida às duas etapas descritas anteriormente.

4.4.1.2 Trituração

Após os tratamentos, as amostras foram trituradas em liquidificador doméstico (Walita), até a formação de massa uniforme, no caso das amostras úmidas (CO e AU), ou farinha uniforme, no caso das amostras secas (SE e AU + SE), com objetivo de aumentar a relação da área superficial por volume de material. As farinhas obtidas, foram homogeneizadas em peneiras da série Tyler com granulometria de 20 mesh. Todas as amostras foram embaladas em sacos plásticos transparentes de polietileno (com capacidade de 200 g), e mantidas sob refrigeração a 5 °C até o momento da realização das extrações.

4.4.2 Processo de extração aquosa enzimática

A extração enzimática em meio aquoso da gordura da semente de cupuaçu foi realizada em duas etapas:

Etapa 1: Processo de extração com celulase

A primeira etapa do processo de extração, objetivou selecionar o ensaio que apresentasse melhor eficiência de extração de gordura, a partir dos diferentes tratamentos dados às amostras (item 4.4.1.1), combinados com diferentes sistemas de incubação, totalizando 24 ensaios.

O processo de extração, seguiu o procedimento recomendado por Texeira et al. (2013), com modificações. Em Erlenmeyer de 125 mL, pesou-se 10 g de cada amostra, separadamente, adicionado de solução tampão pH 4 (ácido acético e acetato de sódio), nas proporções de 1:5 e 1:10 (m/v) e adicionado 1 % de enzima celulase (em relação ao peso da amostra). Posteriormente, as soluções foram incubadas em diferentes condições, conforme esquematizado na Figura 5.

Amostras/ Tratamento	Relação amostra : solvente	Sistema de incubação	Condição de incubação
AU	1:5	Banho termostático + Agitador orbital	Banho termostático - Tempo: 1 h sem agitação - Temperatura: 60 °C Agitador orbital: - Rotação: 120 rpm - Tempo: 1 h - Temperatura: 60 °C <i>Total de ensaios: 8</i>
SE			
AU + SE			
CO			
AU	1:10		
SE			
AU + SE			
CO			
AU	1:5	Banho termostático + Agitador orbital	Banho termostático - Tempo: 1 h com agitação (manual, a cada 10 min) - Temperatura: 60 °C Agitador orbital: - Rotação: 120 rpm - Tempo: 1 h - Temperatura: 60 °C <i>Total de ensaios: 8</i>
SE			
AU + SE			
CO			
AU	1:10		
SE			
AU + SE			
CO			
AU	1:5		
SE			

AU + SE		Agitador orbital	Agitador orbital: - Rotação: 120 rpm - Tempo: 2 h - Temperatura: 60 °C <i>Total de ensaios: 8</i>
CO			
AU	1:10		
SE			
AU + SE			
CO			

Figura 5 – Processo de extração da gordura da amêndoa de cupuaçu de acordo com os diferentes pré-tratamentos efetuados nas sementes e sistemas de incubação.

Para finalizar o processo de extração, as enzimas foram inativadas em banho termostático a 80 °C por 5 minutos. Em seguida, o sistema foi distribuído em tubos de ensaio e centrifugado por 20 minutos a 10.000 g, em temperatura de 40 °C para a separação e obtenção das fases oleosa, aquosa e sólida. Após a separação das fases, os tubos foram armazenados sob refrigeração (5 °C, por 20 min) para solidificação da gordura, a fim de viabilizar o processo de separação e coleta das fases. Após a separação, a fase gordurosa foi coletada com auxílio de pinça de inox, quantificada (massa) para o cálculo de eficiência de extração.

Etapa 2: Cinética de extração com celulase, pectinase e protease

A partir dos resultados obtidos na etapa anterior, foi selecionado o processo (que envolveu diferentes pré-tratamentos da semente e sistemas de incubação) que apresentou melhor resultado de eficiência de extração e procedeu-se um estudo sistemático sob as condições determinadas, com uso de diferentes enzimas: Celluclast® 1.5L (celulase), Pectinex® Ultra SP-L (pectinase) e Alcalase® 2.4L FG, para avaliar a atuação das mesmas no processo de extração aquosa.

Nesta etapa, a quantidade de amostra (10 g), concentração enzimática (1 %) e temperatura do processo (60 °C) foram mantidas, enquanto que a relação massa de amostra/solução aquosa (tampão com pH ótimo para atuação de cada enzima: celulase e pectinase, pH 4; protease pH 8) foi fixada na que apresentou maior rendimento em gordura, na etapa anterior.

A cinética da extração enzimática foi acompanhada, visando selecionar a enzima (celulase, pectinase ou protease) que apresentasse maior eficiência na extração de gordura.

A cinética foi acompanhada pela eficiência da extração de gordura das amostras (em duplicata), no intervalo de 2 em 2 horas, no tempo total de 8 horas de incubação.

As gorduras extraídas foram coletadas e transferidas para tubos Eppendorf de 3 mL, pesadas e armazenadas a -18 °C. As fases aquosas das extrações foram coletadas, filtradas a vácuo com papel de filtro para eliminar qualquer resíduo da torta, transferidas para frascos âmbar e armazenadas a -18 °C.

4.4.3 Eficiência da extração

A eficiência de extração da gordura foi calculada em percentagem de acordo com a Equação 1.

$$\text{Eficiência do processo \%} = \frac{\text{massa da gordura (g)} / \text{massa da amostra (g)}}{\text{teor total de gordura (g)}} \cdot 100 \quad (\text{Eq. 1})$$

Onde, a massa total da gordura na amostra extraída por solvente equivale a 100% de eficiência e os processos avaliados, em função deste teor.

4.5 CARACTERIZAÇÃO DA GORDURA

O ensaio que demonstrou maior eficiência de extração aquosa enzimática em relação à extração com solvente (da gordura da semente de cupuaçu), para cada enzima avaliada na cinética de extração, foi caracterizado.

4.5.1 Perfil de ácidos graxos

A obtenção de metil-ésteres foi realizada via saponificação e esterificação segundo metodologia descrita por Rodrigues et al. (2010). A separação dos ésteres metílicos foi realizada em um cromatógrafo a gás VARIAN Modelo CP-3380, equipado com detector de ionização de chama (FID); injetor split e coluna capilar de sílica fundida CP-SIL 88 (60 m x 0,25 mm, VARIAN, EUA). Os parâmetros de análise foram: hélio como gás de arraste com vazão de 0,9 mL/min, detector FID a 250 °C, injetor (split razão de 1:100) a 245 °C, volume de injeção de 1

μL . A temperatura programada da coluna: 4 min a 80 °C e um aumento subsequente a 220 °C a 4 °C/min. Os picos de ácidos graxos individuais foram identificados por comparação dos tempos de retenção com os de misturas conhecidas de padrão de ácidos graxos (74X Nu-check-prep, Inc., EUA), executados sob as mesmas condições operacionais. Os resultados foram expressos em porcentagem relativa do total de ácidos graxos.

4.5.2 Índice de iodo

O índice de iodo foi calculado a partir da composição em ácidos graxos, de acordo com o método oficial da AOCS Cd 1c-85 (AOCS, 2004).

4.5.3 Índice de saponificação

O índice de saponificação foi calculado a partir da composição dos ácidos graxos dos óleos puros e misturas binárias, de acordo com método oficial da AOCS Cd 3-94 (AOCS, 2004).

4.5.4 Índice de acidez

A acidez foi determinada por titulação segundo o método oficial da AOCS Ca 5a-40 utilizando um titulador potenciométrico (Metrohm, Titrino Plus, modelo 848, Suíça). Os resultados do índice de acidez foram expressos em ácido oleico (AOCS, 2004).

4.5.5 Índice de peróxido

O índice de peróxido foi determinado através do método titulométrico, segundo o método oficial da AOCS Cd 8-53 (AOCS, 2004).

4.5.6 Estabilidade oxidativa

Este método denominado índice de estabilidade oxidativa, consiste em submeter uma amostra de óleo à condições aceleradas de oxidação, determinando o tempo (em horas) para que uma amostra de óleo ou gordura atinja um nível de oxidação (rancificação) de acordo com os parâmetros do teste, tal que os produtos de oxidação formados alterem a condutividade elétrica. A análise foi realizada nas seguintes condições: 3 g de amostra, temperatura de 130 °C e vazão de ar (20 L/h), utilizando aparelho RANCIMAT (Rancimat Metrohm modelo 873, EUA), de acordo com o método Cd 12b-92 (AOCS, 2004). A oxidação foi induzida pela passagem de ar pela amostra, mantida à temperatura constante. Os produtos voláteis de degradação foram coletados em água ultrapura. A curva de condutividade elétrica versus tempo foi automaticamente registrada no decorrer da reação. A estabilidade oxidativa foi expressa como período de indução oxidativa (tempo necessário para atingir o ponto de inflexão da curva de condutividade).

4.5.7 Índices de qualidade nutricional

A qualidade nutricional das amostras foi determinada utilizando o índice de aterogenicidade (IA) (Equação 2) e índice de trombogenicidade (IT) (Equação 3), descritos por Ulbricht e Southgate (2001), e a razão entre ácidos graxos hipocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos (h/H) (Equação 4), descrito por Santos-Silva et al. (2002).

Índice de aterogenicidade (IA):

$$IA = \frac{C12:0 + 4 \times C14:0 + C16:0}{\Sigma AGMI + \Sigma AG\omega6 + \Sigma AG\omega3} \quad (\text{Eq. 2})$$

Índice de trombogenicidade (IT):

$$IT = \frac{C14:0 + C16:0 + C18:0}{(0,5 \times \Sigma AGMI) + (0,5 \times \Sigma AG\omega6) + (3 \times \Sigma AG\omega3) + (\Sigma AG\omega3 / \Sigma AG\omega6)} \quad (\text{Eq. 3})$$

Razão entre ácidos graxos hipocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos (h/H):

$$h/H = \frac{(C18:1 \omega9 + C18:2 \omega6 + C20:4 \omega6 + C18:3 \omega3 + C20:5 \omega3 + C22:5 \omega3 + C22:6 \omega3)}{(C14:0 + C16:0)} \quad (\text{Eq. 4})$$

Sendo, C 12:0= ácidos láurico C14:0 = ácido mirístico, , C16:0 = C18:0 = ácido palmítico, C18:1 ω 9= ácido oleico, C18:2 ω 6= ácido linoleico, C20:4 ω 6= ácido araquidônico, C18:3 ω 3= alfa-linolênico, C20:5 ω 3= ácido eicosapentaenoico, C22:5 ω 3= ácido docosapentaenoico, C22:6 ω 3= docosahexaenoico; Σ AGMI representa a soma das concentrações de todos os ácidos graxos monoinsaturados; Σ AG ω 6 representa a soma das concentrações dos ácidos graxos poliinsaturados ômega 6 e Σ AG ω 3 representa a soma das concentrações dos ácidos graxos poliinsaturados ômega 3.

4.5.8 Compostos bioativos

4.5.8.1 Capacidade antioxidante pelo método ABTS

A determinação da atividade antioxidante foi realizada nas amostras de gordura baseado no método do radical ABTS, descrito por Re et al. (1999). Para o preparo da amostra dissolveu-se 3 g de óleo em 10 mL de hexano. A análise foi realizada conforme descrito no item 4.3.2.2. Os resultados foram expressos em μmolL^{-1} trolox/g.

4.5.8.2 Fenólicos totais

Foi realizada extração por solvente para determinar a concentração de fenólicos totais da gordura. As amostras de gordura foram diluídas em metanol 80 % na proporção de 3:10 (g/mL) em Erlenmeyer de 125 mL e colocado sob agitação (100 rpm) a temperatura de 50 °C durante 60 minutos. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas a 4.000 g por 5 minutos e recolhido o sobrenadante. A fração metanólica recolhida foi lavada com 10 mL de hexano para remoção de interferentes lipídicos.

A concentração de fenólicos totais foi determinada pelo método de Folin-Ciocalteu (SINGLETON; ROSSI, 1965), conforme descrito no item 4.3.3.2. Os resultados foram expressos em $\mu\text{g EAG/g}$.

4.5.9 Infravermelho com transformada de Fourier (ATR-FTIR)

Para as análises de infravermelho foi utilizado o espectrômetro de infravermelho Shimadzu® Corporation IR Prestige 21 - Kyoto-Japão. Todos os espectros foram obtidos em duplicata, na faixa de $4000 - 600 \text{ cm}^{-1}$, com resolução de 4 cm^{-1} e 32 varreduras.

4.5.10 Análise termogravimétrica (TG - DTG)

A avaliação da estabilidade térmica das gorduras foi realizada por meio de análise termogravimétrica. Aproximadamente 2 mg da amostra foram pesados em um recipiente de alumínio e submetidos a análise termogravimétrica (TG / DTG) usando uma termobalança Shimadzu DTG-60H. Curvas termogravimétricas foram obtidas a uma taxa de aquecimento de $10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ em uma faixa de temperatura de 27 a $600 \text{ }^\circ\text{C}$, com fluxo de nitrogênio de 50 mL min^{-1} .

4.5.11 Calorimetria diferencial exploratória (DSC)

A calorimetria diferencial exploratória foi realizada em equipamento DSC-60 plus, Shimadzu®. Aproximadamente 2 mg da amostra foi depositada em um cadinho de alumínio hermeticamente fechado. As análises foram realizadas em atmosfera de nitrogênio (50 mL/min) e razão de aquecimento de $10 \text{ }^\circ\text{C/min}$ conduzido na faixa e temperatura de 10 a $200 \text{ }^\circ\text{C}$. Os cálculos de perda de massa e variação de entalpia foram realizados com auxílio do programa TA 60 w Shimadzu® (NUNES et al., 2009; COSTA et al., 2013).

4.6 ANÁLISE DO EXTRATO AQUOSO

Para o extrato aquoso resultante da extração enzimática, foi utilizado 1 mL de amostra filtrada e diluída em metanol 1:2. Todas as amostras foram centrifugadas e recolhido o sobrenadante. A fração metanólica recolhida, foi lavada com 10 mL de hexano para remoção de interferentes lipídicos.

As amostras foram caracterizadas: capacidade antioxidante conforme o item 4.3.2.2 e fenólicos totais, de acordo com item 4.3.3.2, os resultados foram expressos em μmolL^{-1} trolox/g e $\mu\text{g EAG/g}$, respectivamente.

4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As análises estatísticas dos resultados (dos processos de extração e análises) foram realizadas por meio do software Statistica, versão 7.0 (StatSoft, Inc., EUA) através da análise de variância (ANOVA) e para a comparação das médias foi realizado o teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA

As sementes apresentaram elevado percentual de umidade ($68,25 \% \pm 0,49$) e composição média em base seca de $45,03 \%$ de lipídios (desvio médio de $\pm 0,58 \%$), compatíveis aos dados encontrados na literatura (SILVA et al., 2018). O percentual de gordura obtido através da extração com solvente (hexano) foi adotado como base para o cálculo da eficiência do processo de extração aquoso enzimático.

A concentração de compostos fenólicos e a capacidade antioxidante observada na semente foi de $1.503,07 \pm 22,38 \mu\text{g EAG/g}$ e $320,42 \pm 9,48 \mu\text{mol Trolox/g}$ de amostra, respectivamente. O teor de compostos fenólicos obtido nessa pesquisa, foi superior ao reportado por Santos Filho e Toro (2020) ($381,23 \mu\text{g EAG/g}$), para a mesma matriz vegetal, e próximo ao resultado relatado por Hu e colaboradores (2016), para amêndoa de cacau, de $1.441 \mu\text{g EAG/g}$.

Matrizes ricas em conteúdo lipídico e compostos bioativos, apresentam além de outros benefícios, a potencial capacidade antioxidante, característica relacionada diretamente com a estabilidade e qualidade dos óleos ou gorduras vegetais em geral (HU et al., 2016).

5.2 PROCESSO DE EXTRAÇÃO AQUOSA ENZIMÁTICA

Etapa 1: Processo de extração com celulase

Na Tabela 6, estão apresentados os ensaios e seu respectivos resultados de eficiência de extração de gordura da amêndoa de cupuaçu, de acordo com os diferentes pré-tratamentos efetuados nas sementes e sistemas de incubação.

Tabela 6 – Eficiência de extração da gordura da amêndoa de cupuaçu, de acordo com os diferentes pré-tratamentos efetuados nas sementes e sistemas de incubação.

Incubação	Relação amostra : solvente	Eficiência de extração (%) ± DP			
		SE	AU	AU + SE	CO
BMA	1:5	28,02 ^{b,E} ± 0,38	16,10 ^{c,B} ± 0,15	57,44 ^{a,E} ± 0,26	11,62 ^{d,B} ± 0,65
	1:10	20,18 ^{b,D} ± 0,17	11,57 ^{c,D} ± 0,13	55,15 ^{a,D} ± 0,27	10,33 ^{c,C} ± 0,58
BMB	1:5	36,56 ^{b,B} ± 0,24	13,81 ^{c,C} ± 0,86	63,86 ^{a,B} ± 0,10	11,12 ^{d,B,C} ± 0,37
	1:10	28,18 ^{b,E} ± 0,17	11,36 ^{c,D} ± 0,19	56,93 ^{a,E} ± 0,25	10,74 ^{c,B,C} ± 0,38
AO	1:5	42,90 ^{b,A} ± 0,15	28,24 ^{c,A} ± 0,20	69,95 ^{a,A} ± 0,11	17,35 ^{d,A} ± 0,25
	1:10	32,77 ^{b,C} ± 0,16	12,33 ^{c,D} ± 0,14	61,74 ^{a,C} ± 0,75	10,11 ^{d,C} ± 0,20

Os resultados são apresentados como média ± desvio padrão (DP). As médias seguidas por letras diferentes, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Pré-tratamento da semente: SE: Seca, AU: Autoclavada, AU + SE: Seca + autoclavada, CO: Controle. Sistema de incubação (2 h): BTA: Banho termostático sem agitação + agitador orbital, BMB: Banho termostático com agitação + agitador orbital, AO: Agitador orbital.

É possível observar nos resultados experimentais (Tabela 6), que os ensaios com maiores eficiências ($p < 0,05$) de extração foram aqueles onde a matéria-prima foi submetida a autoclavagem seguida de secagem (AU + SE), confirmando que o calor aplicado durante essa etapa auxilia no rompimento da parede celular vegetal, além de promover a remoção de parte da água presente na amostra e concentrar os demais componentes dessa matriz, facilitando a extração da gordura. É válido ressaltar, que, somente a autoclavagem não apresentou resultados relevantes na eficiência de extração. Aliado ao pré-tratamento aplicado, o sistema de incubação mais vantajoso foi observado quando se utilizou o agitador orbital (AO).

Segundo Mat Yuffoff et al. (2016), a velocidade de agitação auxilia na mistura, causando maior contato da enzima com a parede celular do material e consequente ruptura dessa parede, permitindo maior liberação da gordura para o meio aquoso.

Em todos os casos, os valores de rendimento foram maximizados quando usado o menor valor de diluição.

Os ensaios com menores concentrações de solvente em relação a amostra, apresentaram resultados mais promissores. Isso pode ser justificado, pela melhor atuação da enzima na degradação das paredes celulares, devido a maior concentração da amostra no sistema, o que facilitou a extração da gordura (TEIXEIRA et al., 2013).

Finalizado a primeira etapa, foi possível determinar as condições mais vantajosas de extração:

- Pré-tratamento da semente - o pré-tratamento mais eficaz aplicado nas semente foi a autoclavagem seguida de secagem (AU + SE).
- Relação amostra : solução - a concentração na proporção 1:5 (m/v) apresentou melhor resultado em eficiência de extração de gordura.
- Sistema de incubação - os resultados dos ensaios submetidos a incubação em agitador orbital (AO), tempo de duas horas, foram mais promissores.

Etapa 2: Cinética de extração com celulase, pectinase e protease

Diante dos resultados obtidos na etapa anterior, prosseguiu-se com a cinética de extração, utilizando celulase, pectinase e protease, conduzida sob as seguintes condições experimentais: matéria-prima autoclavada e seca (AU + SE), relação amostra : solvente 1:5 (m/v), incubação em agitador orbital (AO) (temperatura de 60 °C, rotação a 120 rpm, tempo máximo de 8 horas).

Os resultados de eficiência de extração alcançados na cinética, seguem dispostos na Figura 6 e Tabela 7.

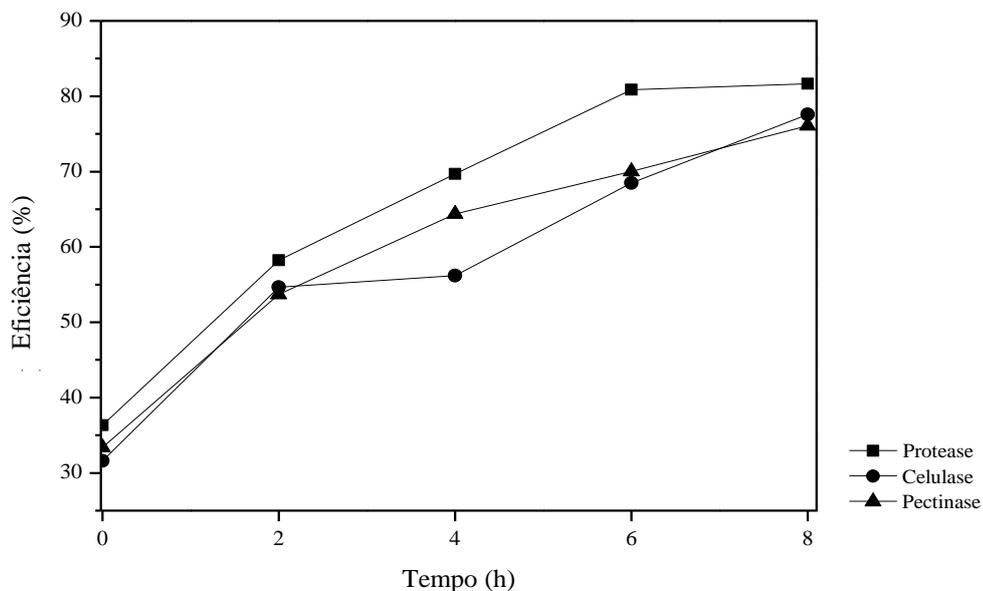


Figura 6 – Cinética de extração da gordura da amêndoa de cupuaçu, utilizando celulase, pectinase e protease, conduzida sob as seguintes condições experimentais: matéria-prima autoclavada e seca (AU+SE), concentração 1:5 (m/v), incubação em agitador orbital (AO) a temperatura de 60 °C.

Tabela 7 – Cinética de extração da gordura da amêndoa de cupuaçu, utilizando celulase, pectinase e protease, conduzida sob as seguintes condições experimentais: matéria-prima autoclavada e seca (AU+SE), concentração 1:5 (m/v), incubação em agitador orbital (AO) a temperatura de 60 °C.

Eficiência de extração (%) ± DP					
Tempo (h)					
Enzima	0	2	4	6	8
Protease	36,83 ± 1,28 ^{d,A}	58,24 ± 1,23 ^{c,A}	69,70 ± 0,41 ^{b,A}	80,86 ± 0,21 ^{a,A}	81,66 ± 0,96 ^{a,A}
Celulase	31,61 ± 0,51 ^{e,C}	54,65 ± 1,18 ^{d,B}	56,21 ± 0,70 ^{c,C}	68,50 ± 1,19 ^{b,C}	77,60 ± 1,29 ^{a,B}
Pectinase	33,07 ± 0,53 ^{e,B}	53,72 ± 1,27 ^{d,C}	64,36 ± 1,33 ^{c,B}	70,03 ± 1,23 ^{b,B}	75,07 ± 1,32 ^{a,C}

Os resultados são apresentados como média ± desvio padrão (DP). As médias seguidas por letras diferentes, minúsculas nas linhas e maiúsculas nas colunas, são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Os resultados da eficiência de extração de gordura, variaram de 31,61 a 81,66 %, confirmando que o tratamento enzimático foi significativo para extração desse componente.

Ao comparar a atividade das enzimas testadas na cinética de extração (na concentração análoga para todas as enzimas), observa-se que a protease foi mais eficiente, na extração da gordura da amêndoa de cupuaçu, sob as mesmas condições experimentais. De acordo com a literatura, a proteína apresenta-se como um dos principais componentes dessa matriz. Assim, a quebra desse macronutriente permite a liberação mais facilmente do óleo da célula para o meio aquoso (SANTOS; FERRARI, 2005; ZHANG et al., 2007; JUNG et al., 2009).

As enzimas têm a capacidade de degradar a estrutura da parede celular e despolimerizar polissacáridos da parede celular de plantas, facilitando a liberação do óleo (GIL-CHÁVEZ et al., 2013).

Em todos os experimentos, verificou-se que, com o aumento do tempo houve uma consequente elevação no rendimento das extrações. Esse comportamento era esperado, pois, quanto maior o tempo de contato enzima – substrato, no intervalo determinado, maior pode ser a extração de gordura, até que o meio se torne saturado.

Os rendimentos de gordura obtidos com a enzima protease nos tempos de 6 e 8 horas não apresentaram diferença significativa entre si ($p > 0,05$), logo uma extração satisfatória (80,86 ± 0,51 %) foi alcançada no tempo de 6 horas.

Jiang et al. (2010), obtiveram um rendimento de 73,45 % de óleo de amendoim, utilizando a Alcalase (protease), nas seguintes condições: temperatura de 60 °C, tempo de 5 horas e 1,5 % de concentração enzimática. Valor inferior aos encontrados neste estudo para a protease.

Texeira et al. (2013), observaram o maior rendimento de extração de óleo com 81,15 % do teor total de óleo de dendê a partir das condições operacionais: concentração de enzima de 4 % (pectinase, celulase e tanase), relação solvente : amostra 3:1 (v/m) e pH 4,7. Ainda nesse estudo, o menor valor de extração (10,65 %) foi obtido sob as seguintes condições operacionais: concentração de enzima de 2 %, diluição 5:1 (v/m) e pH 6,3.

Jiao Jiao et al. (2014), avaliaram a extração de óleo de semente de abóbora, nas condições de 60 °C de temperatura, tempo de 1 hora e 1 % de concentração de enzima, extrato enzimático pectinase e celulase, obtendo 48 e 52 % de rendimento, respectivamente.

Silva et al. (2019), investigaram a extração de óleo de buriti e verificaram que dentre as enzimas estudadas a celulase foi a que apresentou maior rendimento, e as condições ótimas operacionais, foram: temperatura 55 °C, concentração enzimática 2 % e tempo de extração de 6 horas, obtendo 70,50 % do teor total de óleo.

Em condições ideais, Díaz-Suárez et al. (2021), alcançaram um rendimento de 80 % de óleo de mamona, utilizando 2 % de celulase, num tempo de 4 h de incubação e uma proporção de sólido : líquido de 1: 5. Resultados próximos aos detectados no presente trabalho.

Além da alta eficiência de extração, outra vantagem importante do método de extração apresentado neste trabalho refere-se a geração do subproduto da extração que pode ampliar as possibilidades de uso dessa matriz vegetal na indústria, para o desenvolvimento de novos produtos e para agregação de valor aos produtos obtidos a partir das sementes oleaginosas da Amazônia.

5.3 CARACTERIZAÇÃO DA GORDURA

Com base nos resultados obtidos, somente as gorduras que apresentaram melhores resultados de eficiência de extração com protease - no tempo de 6 h de extração (GPR), celulase - no tempo de 8 h de extração (GCE), e pectinases - no tempo de 8 h de extração (GPE), foram caracterizadas.

As propriedades físico-químicas das gorduras da amêndoa de cupuaçu e a composição de antioxidantes estão apresentadas na Tabela 8.

Tabela 8 – Propriedades físico-químicas das gorduras de amêndoa de cupuaçu, GCE, GPE e GPR e composição de antioxidantes.

Ácidos graxos	GCE (%)	GPE (%)	GPR (%)
Ácido caprílico (C8:0)	0,09 ± 0,00 ^b	0,13 ± 0,01 ^a	0,09 ± 0,01 ^b
Ácido láurico (C12:0)	0,05 ± 0,00	-	-
Ácido mirístico (C14:0)	0,04 ± 0,01 ^a	0,03 ± 0,00 ^a	0,04 ± 0,00 ^a
Ácido palmítico (C16:0)	7,76 ± 0,13 ^a	7,73 ± 0,20 ^a	7,25 ± 0,11 ^b
Ácido palmitoleico (C16:1, ω-7)	0,08 ± 0,00 ^a	0,03 ± 0,01 ^b	0,06 ± 0,01 ^a
Ácido margárico (C17:0)	0,20 ± 0,01 ^a	0,22 ± 0,01 ^a	0,20 ± 0,00 ^a
Ácido esteárico (C18:0)	33,14 ± 0,25 ^b	36,40 ± 0,41 ^a	33,72 ± 0,34 ^b
Ácido oleico (C18:1, ω-9)	41,84 ± 0,36 ^a	40,78 ± 0,28 ^b	42,35 ± 0,24 ^a
Ácido linoleico (C18:2, ω-6)	3,56 ± 0,14 ^a	3,71 ± 0,30 ^a	3,58 ± 0,01 ^a
Ácido linolênico (C18:3, ω-3)	10,49 ± 0,31 ^a	10,98 ± 0,19 ^a	10,59 ± 0,05 ^a
Ácido araquídico (C20:0)	0,47 ± 0,01 ^a	0,45 ± 0,00 ^b	0,45 ± 0,00 ^b
Ácido beênico (C22:0)	1,53 ± 0,01 ^b	1,64 ± 0,02 ^a	1,67 ± 0,02 ^a
SFA	43,28	46,60	43,42
MUFA	41,92	40,80	42,41
PUFA	14,06	14,70	14,17
IA	0,14	0,14	0,13
IT	0,72	0,76	0,71
h/H	7,17	7,15	7,75
ω-9/ω-6	11,75	10,99	11,83
Índice de Iodo (g I ₂ /100 g)	69,68	70,26	70,38
Índice de Saponificação (mg KOH/g)	190,61	190,69	190,61
Índice de acidez (mg KOH/g)	1,26 ± 0,05 ^a	1,14 ± 0,18 ^a	1,07 ± 0,03 ^a
Índice de peróxido (meq/kg)	5,69 ± 0,21 ^a	5,77 ± 0,19 ^a	5,46 ± 0,11 ^a
Estabilidade oxidativa (h)	14,15 ± 0,29 ^a	14,20 ± 0,11 ^a	14,26 ± 0,17 ^a
Compostos Bioativos			
Extrato oleoso			
ABTS (μmolL ⁻¹ trolox/g)	18,29 ± 1,40 ^b	18,74 ± 1,74 ^{ab}	22,09 ± 1,08 ^a
Compostos fenólicos (μg EAG/g)	134,50 ± 12,57 ^a	125,54 ± 10,36 ^a	141,84 ± 12,57 ^a
Extrato aquoso			
ABTS (μmolL ⁻¹ trolox/g)	106,26 ± 4,26 ^b	110,27 ± 3,94 ^b	122,76 ± 4,70 ^a
Compostos fenólicos (μg EAG/g)	897,06 ± 15,31 ^a	838,24 ± 15,72 ^b	926,47 ± 22,61 ^a

Os resultados são apresentados como média ± desvio padrão (DP). As médias seguidas por letras diferentes na mesma linha são significativamente diferentes pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). SFA: ácidos graxos saturados; MUFA: ácidos graxos monoinsaturados; PUFA: ácidos graxos poli-insaturados, IA: índice de aterogenicidade; IT: índice de trombogenicidade; h/H: razão entre graxos hipocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos; ω-9/ω-6: relação entre ácido oleico e linoleico. GCE: gordura obtida com celulase (8 h); GPE: gordura obtida com pectinase (8 h); GPR: gordura obtida com protease (6 h).

5.3.1 Perfil de ácidos graxos

As composições de ácidos graxos das gorduras da amêndoa de cupuaçu extraída enzimaticamente, apresentadas na Tabela 8, demonstram grandes similaridades entre si. Entre os principais ácidos graxos presentes nessas gorduras, têm-se: ácido oleico (40,78 % a 42,35 %), esteárico (33,14 % a 36,40 %) e linolênico (10,49 % a 10,98 %), totalizando 85,47 %, 88,16 % e 86,66 %, para as gorduras GCE, GPE e GPR, respectivamente.

Comparando com outras gorduras vegetais, a manteiga de cacau (GILABERT-ESCRIVA et al., 2002), por exemplo, é composta principalmente por ácido palmítico (33,60 %), esteárico (33,90 %) e oleico (31,40 %), enquanto que na gordura de murumuru (PEREIRA, et al., 2019), os ácidos graxos predominantes são o ácido láurico (47,15 %), mirístico (28,75 %) e oleico (7,97 %).

As gorduras da amêndoa de cupuaçu apresentaram conteúdos de ácidos graxos insaturados de 55,50 a 56,58 %, com maior concentração de ácido oleico (40,78 a 42,35 %), que apresenta elevada estabilidade à oxidação quando comparado aos ácidos graxos poli-insaturados (PUFA). O alto teor de ácido oleico é responsável, também, por conferir a característica de maciez da gordura de cupuaçu (BEZERRA et al., 2017; BEYZI et al., 2019).

O ácido oleico (ω -9) é o mais importante do grupo dos ácidos graxos monoinsaturados e o mais comum encontrado na natureza. Suas principais fontes dietéticas são os óleos vegetais, como os de oliva, canola, abacate, além de sementes, castanhas, nozes e amêndoas (HU et al., 2001). Sendo considerado como "gordura boa" por estar relacionado a diversos benefícios para a saúde. Dentre eles, pode-se destacar: sua atuação na redução do colesterol LDL (lipoproteína de baixa densidade), sem impactar a quantidade de "colesterol bom" (HDL- lipoproteína de alta densidade) no corpo, é responsável, também, por diminuir riscos de doença retinianas e cardiovasculares (JONES et al., 2015).

Em relação aos ácidos graxos saturados (SFA), as gorduras de cupuaçu apresentaram percentual variando de 43,28 a 46,60 %, com predominância do ácido esteárico (33,14 a 36,40 %). O ácido esteárico, por sua vez, possui impacto neutro nos níveis séricos de colesterol devido à sua baixa disponibilidade e comprimento de cadeia, e por isso tem sido utilizado em diversas pesquisas como componente funcional em alimentos (LUMOR et al., 2007; AHMADI; MARANGONI, 2009).

Altas concentrações de ácidos graxos saturados têm um efeito benéfico na estabilidade térmica, sugerindo que essas gorduras possam ser úteis para a indústria alimentícia. Ácidos graxos saturados de cadeia média em sementes oleaginosas também têm amplo uso nas

indústrias químicas e cosméticas, pois contêm moléculas com propriedades surfactantes e emolientes, que podem ser usadas na produção de cosméticos, sabão, detergente e biocombustível (GUNSTONE, 2011).

5.3.2 Índices de qualidade nutricional

Os índices de qualidade nutricional são frequentemente utilizados para a avaliação de óleos e gorduras, pois permitem uma melhor compreensão dos efeitos da composição de ácidos graxos na saúde. Os índices de aterogenicidade (IA) e trombogenicidade (IT) estão diretamente relacionados ao potencial de estímulo à agregação plaquetária (ULBRICHT; SOUTHGATE, 1991). Portanto, lipídios com menores valores de IA e IT têm maior potencial de prevenir doenças coronarianas. Valores de IA e IT inferiores a 1 e 0,5; respectivamente, são recomendados em termos de saúde humana (FERNANDES et al., 2014). As gorduras GCE, GPE e GPR apresentaram valores próximos para IA (0,14; 0,14; 0,13 - nesta ordem) o que indica que essas amostras apresentam teores elevados e equivalentes de ácidos graxos anti-trombogênicos (Tabela 8). Quanto aos resultados de IT, as gordura GCE, GPE e GPR apresentaram valores aproximados, de 0,71; 0,76 e 0,71; respectivamente, porém superiores ao indicado para esse parâmetro, devido a composição de ácidos graxos saturados desses produtos.

Bezerra et al. (2017), analisaram óleos e gorduras amazônicas, incluindo a gordura de cupuaçu comercial, quanto aos indicadores de qualidade nutricional, IA e IT, que variaram de 0,02 a 1,03 e 0,14 a 2,01, respectivamente, para as amostras puras. Bases lipídicas que contenham maiores concentrações de ácidos graxos insaturados tendem a apresentar melhores valores de IT.

A razão entre graxos hipocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos denomina-se relação h/H. A razão h/H considera a funcionalidade dos ácidos graxos no metabolismo das lipoproteínas de transporte do colesterol plasmático, cujo tipo e quantidade está relacionado com o aparecimento ou prevenção de doenças cardiovasculares (ATTIA et al., 2015). As gorduras GCE, GPE e GPR apresentaram resultados da razão h/H variando de 7,15 a 7,75 %. Segundo Assunção (2007), valores superiores a 2,0 correspondem a uma composição desejável de ácidos graxos em nível nutricional, pois são compostos, em sua maioria, de ácidos graxos hipocolesterolêmicos que atuam na redução do risco de doenças cardiovasculares.

Um outro índice de qualidade nutricional frequentemente utilizado na avaliação de óleos e gorduras, é a relação entre ácido oleico e linoleico (ω -9/ ω -6) presente na amostra, pois

permite saber sobre a estabilidade do óleo extraído. O ácido graxo linoleico, quando presente na alimentação humana, pode reduzir o colesterol no plasma sanguíneo e, por consequência, o fator de risco de doenças cardiovasculares. O ácido graxo oleico, confere ao óleo uma maior estabilidade oxidativa durante o processo de refino, estocagem e fritura, além dos benefícios à saúde, como aqueles proporcionados pelo ácido linoleico. Segundo Freire et al. (2010), se o valor dessa relação for maior que 3 % indica que o óleo ou gordura tem grande resistência à rancificação. Os valores obtidos para as gorduras GCE, GPE e GPR, foram muito superiores a 3 % (variando de 10,99 a 11,83 %), indicando a boa estabilidade oxidativa da gordura. Também foi possível observar, que as extrações realizadas com as diferentes enzimas não modificaram significativamente o perfil de ácidos graxos da gordura de cupuaçu.

Considerando as análises de índice de qualidade nutricional realizadas, pode-se caracterizar as gorduras de cupuaçu, extraídas enzimaticamente, como benéficas à saúde. Esses resultados, são influenciados, principalmente, pela composição de graxos insaturados presente na gordura de cupuaçu, em especial, o ácido oleico.

5.3.3 Índices de iodo e saponificação

O índice de iodo é a medida do grau de insaturação dos ácidos graxos presentes no óleo ou gordura. Quanto maior o valor deste índice, maior o número de insaturação das cadeias de ácidos graxos das moléculas de triacilgliceróis (ADEWUYI et al., 2010). As gorduras da amêndoa de cupuaçu apresentaram índices de iodo iguais a 69,68; 70,26 e 70,38 g I₂/100 g, para GCE, GPE e GPR, respectivamente, próximos ao valor encontrado por Bezerra e colaboradores (2017) de 74,2 g I₂/100 g, para a gordura de cupuaçu comercial. Esses valores apresentam-se em concordância com as composições de ácidos graxos, pois estas gorduras apresentam elevados conteúdo de ácidos graxos monoinsaturados e saturados.

O índice de saponificação representa uma indicação da quantidade relativa de ácidos graxos de alta e baixa massa molecular. Os ácidos graxos de baixa massa molecular requerem mais álcalis para a saponificação, portanto, o índice de saponificação é inversamente proporcional a massa molecular dos ácidos graxos presentes nos triacilgliceróis (CECCHI, 2003).

Os índices de saponificação das gorduras de cupuaçu (GCE: 190,61; GPE: 190,69 e GPR: 190,61 mg KOH/g) estão próximos ao descrito por Alviárez et al. (2016), que obtiveram 188,15 mg KOH/g para a mesma matriz vegetal. O índice de saponificação da maioria dos óleos

e gorduras está na faixa de 180-200 mg KOH/g, que é característico de óleos com uma composição de ácidos graxos de elevada massa molecular.

Os valores obtidos nessa pesquisa encontram-se próximos aos reportados na literatura para gorduras obtidas por métodos tradicionais, indicando que o método de extração não altera a composição de ácidos graxos e índices de iodo e saponificação dessa gordura.

5.3.4 Índices de acidez e peróxido

A Comissão do Codex Alimentarius (1999), estabeleceu os limites para valores máximos de acidez e peróxido para óleos e gorduras prensadas a frio e não refinados, como 4,0 mg KOH/g e 15 meq/kg, respectivamente.

Considerando esses requisitos de qualidade, as gorduras estudadas nessa pesquisa estão de acordo com ambas as especificações (índices de acidez: 1,26; 1,14 e 1,07 mg KOH/g e peróxido: 5,69; 5,77 e 5,50 meq/kg). Porém traçando uma comparação com os valores relatados para gordura de cupuaçu comercial de 3,33 mg KOH/g e 10,20 meq/kg (acidez e peróxido, respectivamente) (BEZERRA et al., 2017), observa-se que esta apresenta valores muito superiores, indicando que a gordura comercial apresentava maior taxa de oxidação, decorrente, provavelmente, do processo de extração ou formas inadequadas de armazenamento.

Os valores obtidos nessa pesquisa, para esses requisitos não apresentaram diferença estatística (a nível de 5% de significância) entre si.

5.3.5 Estabilidade oxidativa

A estabilidade oxidativa é uma propriedade importante dos óleos e gorduras e é expressa como o tempo necessário para a formação dos produtos secundários de oxidação, que são detectados sob diferentes condições. Este período é conhecido como o tempo de indução (PARDAUIL et al., 2011). A estabilidade oxidativa depende do número e posição das ligações duplas. Como os hidrogênios alílicos são mais suscetíveis à oxidação, essa característica é afetada pela composição de ácidos graxos, presença de antioxidantes, oxigênio, luz e temperatura de armazenamento (MERRILL et al., 2008; FREIRE et al., 2012).

As gorduras GCE, GPE e GPR destacaram-se por sua boa estabilidade oxidativa a 130 °C, próxima de 14 h e não apresentaram diferença significativa a nível de 5 % de

probabilidade. Essa alta estabilidade à oxidação é explicada pela sua composição em ácidos graxos saturados e monoinsaturados, mais precisamente o ácido oleico, que é conhecido por sua resistência à degradação por oxidação. Além disso, essa resistência pode estar relacionada à presença de quantidades significativas de antioxidantes naturais, como foi detectado na composição das sementes (PARDAUIL et al., 2011).

Óleos tradicionalmente empregados, como algodão (1,50 h), canola (1,85h), soja (1,51 h) e óleos de girassol (0,88 h), possuem baixa estabilidade oxidativa, como observado por Anwar et al. (2003). Em geral, as gorduras apresentam melhor estabilidade oxidativa em comparação aos óleos, isso deve-se ao maior teor de ácidos graxos saturados, tornando-a menos susceptível à oxidação (CHOE; MIN, 2006).

A estabilidade de alguns óleos e gorduras comerciais amazônicas foi relatada por Bezerra e colaboradores (2017), que encontraram período de indução para óleo de pracaxi de 5,55 h; para óleo de maracujá 0,75 h; estearina de palma 7,23 h e gordura de cupuaçu 3,65 h. A menor estabilidade oxidativa da gordura comercial de cupuaçu, porém, pode estar relacionada as condições de extração, exposição ao oxigênio, luz e temperatura de armazenamento inadequadas, que também são fatores determinantes na qualidade da gordura (MERRILL et al., 2008; FREIRE et al., 2012).

5.3.6 Capacidade antioxidante e fenólicos totais

As gorduras de cupuaçu e os extratos aquosos demonstraram potenciais atividades antioxidantes, sendo superiores na fração aquosa da extração (Tabela 8).

Silva et al. (2019), determinaram a capacidade antioxidante de óleos de buriti e obtiveram valores variando de 163,88 a 217,97 $\mu\text{mol Trolox/g}$ de óleo, superior ao obtido nessa pesquisa, isso por que o óleo de buriti contém altas concentrações de tocoferóis e carotenoides, especialmente β -caroteno, que juntos promovem maior atividade antioxidante para o óleo (DURÃES et al., 2008).

A determinação de compostos fenólicos em óleos e gorduras é considerada necessária, pois é um dos indicadores importantes da qualidade do óleo. Esses compostos são responsáveis pela capacidade de eliminação de radicais livres e peroxidação de lipídios.

O resultado de compostos fenólicos totais para a gordura, revelou quantidades significativa de compostos fenólicos na gordura bruta, variando de 134,50 a 141,84 $\mu\text{g EAG/g}$ (Tabela 8), no entanto, inferiores ao detectado da fase aquosa da extração (de 838,24 a 926,47

$\mu\text{g EAG/g}$). Isso é devido a maior parte dos compostos fenólicos serem solúveis em água, tornando esse meio mais apropriado, o que também justifica a capacidade antioxidante ser maior nessa fração (HAYOUNI et al., 2007). Rovaris et al. (2013), obtiveram resultados promissores ao realizar a caracterização química e nutricional do extrato líquido resultante na extração aquosa enzimática do óleo de soja, indicando o grande potencial de aplicação da fase polar obtida nestes processos.

Teixeira et al. (2013), caracterizam o óleo de palma quanto ao teor de compostos fenólicos e encontraram valores entre 14,76 e 26,43 mg EAG/kg óleo. Jiao Jiao et al. (2014), utilizaram a extração aquosa enzimática para obtenção do óleo de semente de abóbora e verificaram que essa extração (12,88 mg EAG/100 g óleo) teve um efeito maior nos compostos fenólicos do que a extração por soxhlet (7,33 mg EAG/100 g óleo), confirmando a eficiência dessa técnica de extração para a preservação de compostos bioativos.

Na avaliação da atividade antioxidante das gorduras, os valores encontrados para as diferentes amostras (106,26; 110,27 e 122,76 μmolL^{-1} trolox/g, para GCE, GPE e GPR, respectivamente) corroboram os resultados da determinação de compostos fenólicos. Esses resultados (Tabela 8) são promissores a considerar o método alternativo de extração das amostra em estudo. Assim, pode-se inferir que as gorduras GCE, GPE e GPR apresentaram teores significativos de compostos fenólicos e boa atividade antioxidante, e que os melhores resultados obtidos para a amostra GPR podem estar relacionados ao menor tempo de incubação na etapa de extração enzimática da referida gordura.

Esses resultados sugerem que a gordura obtida por extração enzimática possui propriedades tecnológicas superiores a gordura extraída por método convencional, pois gera um subproduto ricos em compostos bioativos, podendo ser melhor explorada pelo setor industrial das áreas farmacêuticas, cosméticas e alimentícias, além de representar uma técnica de extração verde que colabora para preservação ambiental e fomenta a utilização de resíduos proveniente da agroindústria.

5.3.7 Infravermelho com transformada de Fourier (ATR-FTIR)

Os espectros de ATR-FTIR, obtidos na região de 4.000 a 500 cm^{-1} e os números de onda (cm^{-1}) dos picos identificados nos espectros das amostras de gordura da amêndoa de cupuaçu estão apresentados na Tabela 9 e Figura 7.

Tabela 9 - Número de onda (cm^{-1}) dos picos identificados nos espectros das amostra de gordura de cupuaçu (GCE, GPE e GPR).

Identificação	GCE	GPE	GPR
Banda 1	2918	2914	2920
Banda 2	2851	2849	2850
Banda 3	1734	1744	1736
Banda 4	1468	1470	1466
Banda 5	1179	1177	1179
Banda 6	717	717	719
Banda 7	609	608	608

GCE: gordura obtida com celulase (8 h); GPE: gordura obtida com pectinase (8 h); GPR: gordura obtida com protease (6 h).

Os espectros obtidos por FTIR apresentam modos e combinações vibracionais de grupos funcionais dos ácidos graxos presentes na composição química das gorduras GCE, GPE e GPR, com bandas de absorção de maior intensidade na região de 3.000 a 2.800 cm^{-1} , que podem ser atribuídas às vibrações de deformação axial das ligações C-H dos grupamentos metila (CH_3), metileno (CH_2) e das ligações duplas ($=\text{C}-\text{H}$).

As bandas com intensidade intermediária, que aparecem na região de 1.500 a 1.300 cm^{-1} , são originárias das vibrações de deformação angular das ligações C-H dos grupamentos metila e metileno. A banda que aparece, aproximadamente, na região de 1.730 cm^{-1} é referente às vibrações de deformação axial do grupo carbonila ($\text{C}=\text{O}$) presente nos grupos ésteres constituintes dos triacilgliceróis. Na região de 1.300 a 900 cm^{-1} , que contém parte da região de “impressão digital” dos compostos, encontram-se as bandas de absorção referentes às vibrações de deformação axial da ligação C-O dos ésteres constituintes dos triacilgliceróis (GARCÍA-GONZÁLEZ et al., 2013). Finalmente, os picos próximos a 600 cm^{-1} podem ser atribuídos ao anel de benzeno.

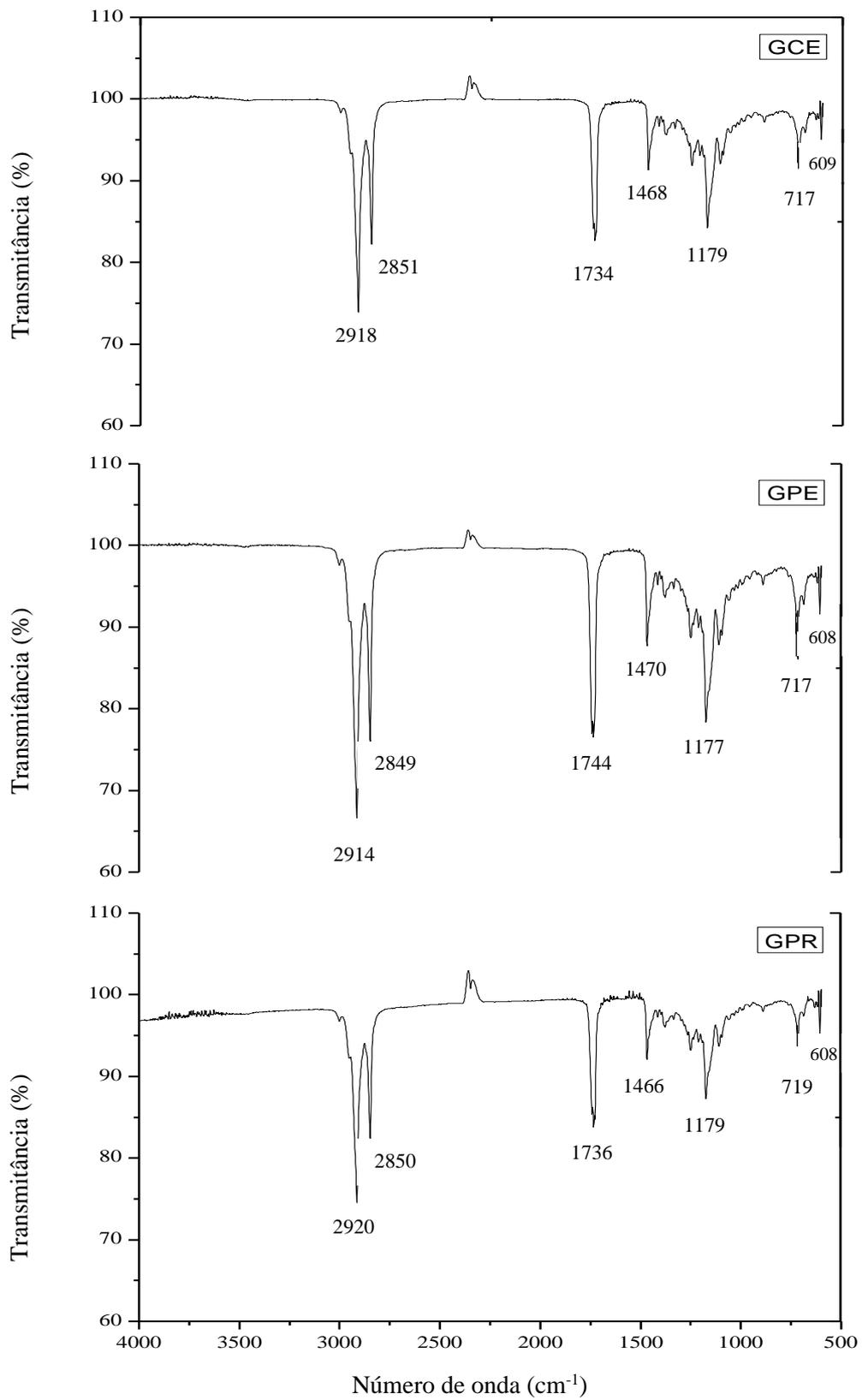


Figura 7 - Espectros vibracionais no infravermelho das amostras de gordura de cupuaçu ((GCE: gordura obtida com celulase (8 h); GPE: gordura obtida com pectinase (8 h); GPR: gordura obtida com protease (6 h)).

Bandas vibracionais semelhantes, foram obtidas para outras matrizes amazônicas, como o óleo de sapucaia (*Lecythis pisonis* Camb.), pesquisado por Santos et al. (2019), óleo de bacaba (*Oenocarpus bacaba*), avaliado por Pinto et al. (2018), ambos extraídos com CO₂ supercrítico e óleo de buriti (*Mauritia flexuosa* L.) (ALBUQUERQUE et al., 2003), extraídos pelo método convencional. Eles também foram encontrados em óleo de girassol (THAKORE et al., 2014), óleos de chia, oliva e canola, avaliados por Timilsena et al. (2017).

A análise de FTIR além de fornecer informações dos diferentes grupos funcionais presentes em amostra oleaginosa, pode ser aplicado também, para avaliar o processo de oxidação de óleos comestíveis, baseado nas mudanças espectrais da amostra analisada, como resultado do aparecimento de bandas espectrais atribuídas a produtos de oxidação, como aldeídos, cetonas, álcoois, ácidos carboxílicos, peróxidos e hidroperóxidos (GUILLÉN; CABO, 2002; SYAH LUBIS et al., 2015). Esses produtos, não foram observados nas bandas espectrais das amostras de gordura de cupuaçu analisadas.

Foi observado nos diferentes espectros, que as bandas de vibração das ligações envolvidas são semelhantes e não sofreram deslocamento relevante em relação ao comprimento de onda, indicando ausência de interações químicas significativas das gorduras em função dos diferentes processos de extração (SILVA-JÚNIOR et al., 2008). Estes resultados sugerem que o processo utilizado para obtenção das gorduras não afetou grupos funcionais de compostos tais como carbonilas e ácidos carboxílicos, que foram preservados nos espectros em todas as amostras.

5.3.8 Análise termogravimétrica (TG - DTG)

Para avaliar o comportamento térmico em atmosfera de nitrogênio, a gordura foi aquecida até a temperatura de 600 °C na razão de aquecimento de 10 °C min⁻¹.

As curvas termogravimétricas das amostras de gordura de cupuaçu GCE, GPE e GPR (Figura 8) mostraram o comportamento térmico similares e característicos, onde as gorduras apresentaram estabilidade térmica até temperatura próxima de 405 °C, a partir dessa temperatura ocorreu um único evento de perda de massa para cada amostra, tendo início a partir da faixa de 405 a 450 °C. Esses eventos podem ser melhor visualizados pelo declínio da linha de base, como mostrado pela curvas DTG.

Na Tabela 10, estão apresentados os eventos térmicos por termogravimetria de GCE, GPE e GPR, com suas respectivas perdas de massa e percentual de resíduo final.

Tabela 10 - Comportamento térmico por termogravimetria das amostras de gordura de cupuaçu GCE, GPE e GPR.

Amostra	Temperatura <i>on set</i> (°C)	Temperatura <i>end set</i> (°C)	Massa perdida (%)	Resíduo (%)
GCE	405,94	450,73	97,14	2,86
GPE	405,55	450,28	98,21	1,79
GPR	406,77	449,16	95,95	4,05

GCE: gordura obtida com celulase (8 h); GPE: gordura obtida com pectinase (8 h); GPR: gordura obtida com protease (6 h).

Os resultados encontrados na análise termoanalítica foram relevantes para a avaliação da estabilidade das gorduras analisadas. Foi evidenciado que não houve alterações significativas no comportamento entre as gorduras, sugerindo que não houve alterações relevantes nos constituintes químicos dessas amostras em função das diferentes extrações.

Todas as gorduras de cupuaçu analisadas, foram degradadas em temperaturas muito elevadas, isso deve-se à presença relativamente alta de ácidos graxos saturados, o que foi comprovado pela composição de ácidos graxos e análise da estabilidade oxidativa, tornando essas gorduras de boa estabilidade térmica, além da elevada estabilidade à oxidação.

As faixas de temperatura de estabilidade e de temperatura final de decomposição da gorduras GCE, GPE e GPR, são superiores às obtidas para gordura de babaçu, por Faria et al. (2002). Isso se deve, principalmente, por que a gordura de babaçu apresenta um maior teor de triacilglicerídeos contendo ácidos graxos com menor comprimento de cadeia e, por isso, sua volatilização se inicia e termina em temperaturas inferiores às observadas para as gorduras de cupuaçu.

Os resultados obtidos a partir da análise termogravimétrica permitem sugerir essa análise como uma ferramenta importante para a investigação do efeito da presença de triacilglicerídeos perante seu comportamento térmico, permitindo ainda, a correlação do efeito com o tamanho relativo (cadeia curta ou longa) e quantidade de insaturação da cadeia do triacilglicerídeo, além de ser utilizada no controle de qualidade, pois fornecem, com rapidez e eficiência, informações sobre a estabilidade do extrato oleoso (FARIA et al., 2002; VOGEL, 2011).

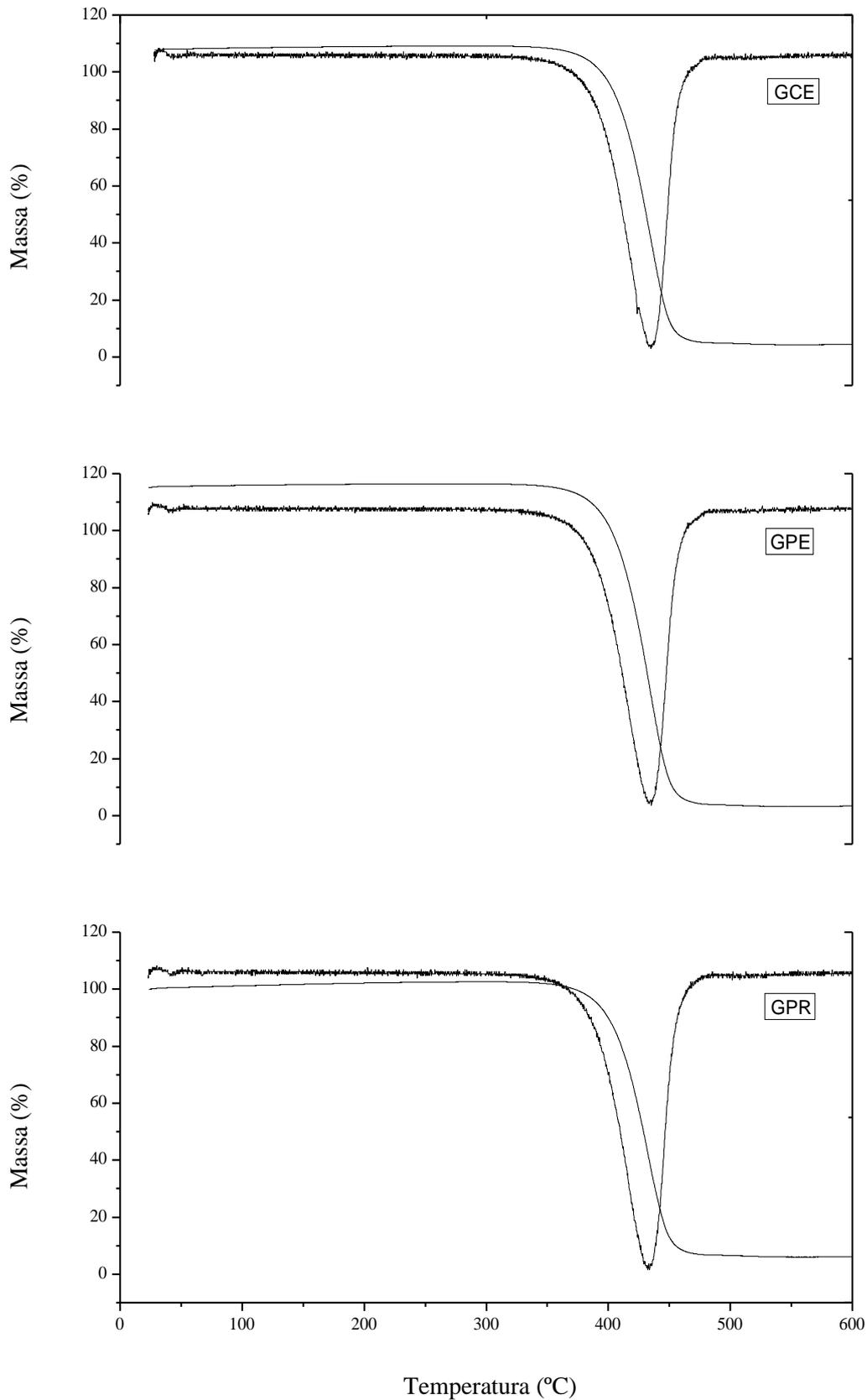


Figura 8 – Curvas TG – DTG das amostras de gordura de cupuaçu ((GCE: gordura obtida com celulase (8 h); GPE: gordura obtida com pectinase (8 h); GPR: gordura obtida com protease (6 h) em atmosfera de nitrogênio, aquecida até a temperatura de 600 °C na razão de aquecimento de 10 °Cmin⁻¹.

5.3.9 Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC)

Segundo Luccas (2001), a entalpia de fusão ou fluxo de calor, de uma gordura corresponde ao seu calor latente, ou seja, é a energia que deve ser fornecida à amostra para que ocorra uma completa fusão da gordura. Os valores de entalpia de fusão tem relação direta com os teores de triacilglicerídeos (insaturados ou saturados) presentes nas amostras.

Na Tabela 11 estão apresentados os eventos térmicos por DSC de GCE, GPE e GPR com suas respectivas temperaturas.

Tabela 11- Comportamento térmico por DSC das amostras de gordura de cupuaçu GCE, GPE e GPR.

Amostra	Temperatura on set (°C)	Temperatura de pico (°C)	Temperatura end set (°C)
GCE	31,47	33,07	36,50
GPE	30,02	34,06	37,69
GPR	31,65	33,59	35,78

GCE: gordura obtida com celulase (8 h); GPE: gordura obtida com pectinase (8 h); GPR: gordura obtida com protease (6 h).

Conforme os dados apresentados na Tabela 11, os pontos de fusão das amostras de gordura não apresentaram grandes diferenças entre si, tendo variação de 33,07 a 34,06 °C. Oliveira et al. (2021), encontraram valores de 27,20 e 17,90 °C para manteiga de cupuaçu e óleo de inajá, respectivamente. Essas temperaturas são influenciadas, entre outros parâmetros, pela composição de ácidos graxos da matriz oleaginosa, onde, matrizes ricas em cadeias carbônicas saturadas tendem apresentar ponto de fusão superiores, quando comparadas a matrizes com predomínio de cadeias carbônicas insaturadas.

O processamento térmico é uma das principais operações na indústria de alimentos, por este motivo, é muito importante conhecer os efeitos do calor nos vários constituintes presentes nos alimentos, a fim de minimizar a perda de qualidade inerente ao produto ou otimizar condições de processo (GARCIA et al., 2004). A DSC é muito usada na caracterização da manteiga de cacau, por exemplo, pois a análise dos eventos de fusão dessa manteiga é de suma importância, uma vez que impacta na qualidade do produto final, chocolate. Um dos itens relacionados com a qualidade do chocolate é a estabilidade dos cristais de gordura frente às oscilações térmicas, tendo em vista que há necessidade de transporte do produto,

armazenamento e exposição a diferentes ambientes até o momento do consumo (OLIVEIRA, 2013).

Na análise termoanalítica por calorimetria diferencial exploratória (DSC) de GCE, GPE e GPR (Figura 9), identificou-se que todas as amostras apresentaram apenas um evento endotérmico.

As curva de DSC estão apresentadas na Figura 9, onde pode ser observado os picos de absorção de calor que representa o maior ponto de fusão dos cristais presentes. De acordo com Segura et al. (1990), a fusão de uma substância pura pode ser determinada por DSC através do pico de absorção de calor (endoterma) e a temperatura final de fusão obtida por DSC pode ser considerada o ponto onde termina o fenômeno da fusão, isto é, quando todos os cristais se transformam para a forma líquida.

A técnica de DSC possibilita acompanhar os efeitos de calor associados às alterações físicas ou químicas da amostra, que envolvem processos endotérmicos, exotérmicos, mudanças na capacidade calorífica como transições de fase e reações de desidratação, dissociação, decomposição, óxido-redução, dentre outros (LEIVA, 2006).

Análises térmicas, representam um grupo de ensaios muito importantes na caracterização de matérias-primas, pois, o monitoramento das alterações do material em função do tempo e temperaturas aplicadas permite a definição de propriedades físicas e químicas para determinar possíveis aplicações, armazenamento e transporte de matérias-primas ou produtos acabados (FARIA et al., 2002).

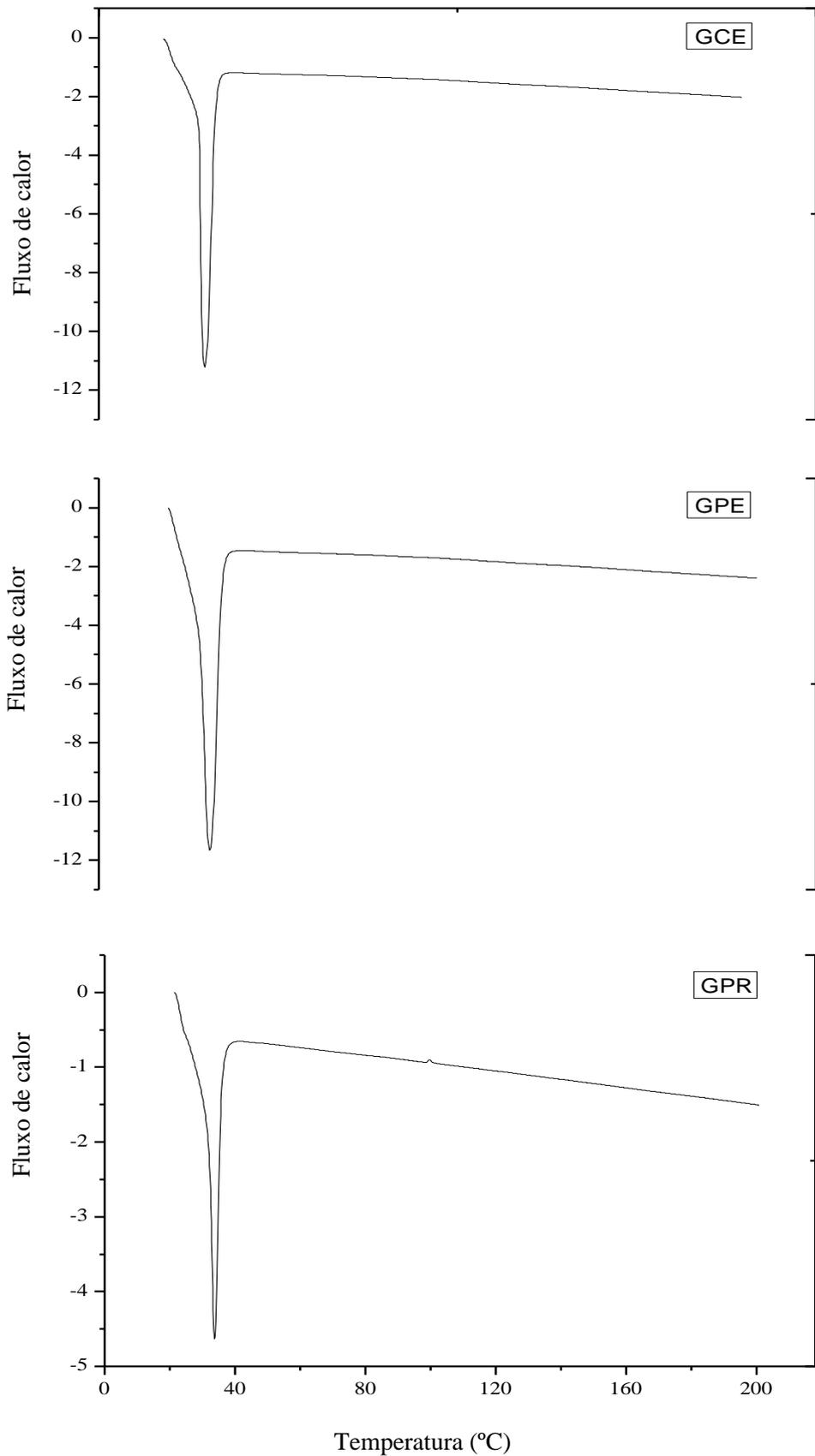


Figura 9 – Curvas de DSC das amostras de gordura de cupuaçu, GCE: gordura obtida com celulase (8 h); GPE: gordura obtida com pectinase (8 h); GPR: gordura obtida com protease (6 h).

6 CONCLUSÃO

Os resultados alcançados nessa pesquisa, confirmam que a gordura de cupuaçu obtida por extração enzimática possui propriedades tecnológicas superiores a gordura extraída por métodos convencionais, podendo ser melhor explorada pelo setor industrial, além de representar uma técnica de extração verde.

Uma extração satisfatória da gordura ($80,86 \pm 0,21$ %) foi alcançada com a utilização da enzima protease, no tempo de extração de 6 horas.

O tratamento enzimático permite utilizar temperaturas mais brandas e por isso evita a degradação de compostos antioxidantes, além do menor consumo de energia no processo.

Os resultados encontrados na análise termoanalítica foram relevantes para a avaliação da estabilidade das gorduras analisadas, além de fornecerem dados sobre a perda de umidade, demais compostos voláteis e a temperatura máxima de estabilidade.

Essa pesquisa fornece novas informações mostrando que a gordura de cupuaçu extraída enzimaticamente, bem como o extrato aquoso proveniente da extração, apresentam-se como matérias-primas para o desenvolvimento de novos produtos na indústria alimentícia, farmacêutica e cosmética, ao mesmo tempo que atendem à demanda de segurança baseada em tecnologias alternativas, com a substituição do uso de solventes derivados do petróleo por processos tecnológicos mais sustentáveis.

REFERÊNCIAS

ADAM, F.; ABERT-VIAN, M.; PELTIER, G.; CHEMAT, F. “Solvent-free” ultrasound assisted extraction of lipids from fresh microalgae cells: a green, clean and scalable process. **Bioresource Technology**, v. 114, p. 457-465, 2012.

AHMADI, L.; MARANGONI, A. G. Functionality and physical properties of interesterified high oleic shortening structured with stearic acid. **Food Chemistry**, v. 117, n. 4, 668-673, 2009.

AKOH, C. C.; MIN, D. B. **Food lipids: chemistry, nutrition and biotechnology**. New York: CRC Press, 2007.

ALBUQUERQUE, M. L. S.; GUEDES, I.; ALCANTARA, P.; MOREIRA, S. G. C. Infrared absorption spectra of Buriti (*Mauritia flexuosa* L.) oil. **Vibrational Spectroscopy**, v. 33, p. 127-131, 2003.

ALVES, R. M.; CHAVES, S. F. S.; OLIVEIRA, R. P. **Valor produtivo e adaptativo de progênies de cupuaçuzeiro na microrregião de Tomé-Açu**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2021.

ALVES, R. M.; FILGUEIRAS, G. C.; HOMMA, A. K. O. Aspectos socioeconômicos do cupuaçuzeiro na Amazônia: do extrativismo a domesticação. In: SANTANA, A. C. (ed.). **Mercado, cadeias produtivas e desenvolvimento rural na Amazônia**. 1. ed. Belém: UFRA, 2014.

ANTONIASSI, R.; ARRIEL, N. H.; GONÇALVES, E. B.; FREITAS, S. C.; ZANOTTO, D. L.; BIZZO, H. R. Influência das condições de cultivo na composição da semente e do óleo de gergelim. **Revista Ceres**, v. 60, n. 3, 2013. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rceres/a/GwQzDS6rKxswq5cw4nCrC4K/?lang=pt#>. Acesso em: 23 de jul. 2022.

ANWAR, F.; BHANGER, M., I.; KAZI, T., G. Relationship between rancimat and active oxygen method values at varying temperatures for several oils and fats. **Journal of American Oil Chemists' Society**, v. 80, p. 151-155, 2003.

AOAC - Association of Official Analytical Chemists. **Official Method of Analysis**. 16. ed., Washington, 2002.

AOCS - American Oil Chemists' Society. **Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society**. Champaign, 2004.

APAK, R.; GÜÇLÜ, K.; DEMIRATA, B.; ÖZYÜREK, M.; ÇELİK, S. E.; BEKTAŞOĞLU, B.; BERKER, K. I.; ÖZYURT, D. Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. **Molecules**, v. 12, n. 7, p. 1496-1547, 2007.

ARAÚJO, V. F.; PASTORE JR, F.; PETRY, A. C.; ECHEVERRIA, R. M.; FERNANDES, E. C. **Plantas da Amazônia para produção cosmética: uma abordagem química - 60 espécies do extrativismo florestal não-madeireiro da Amazônia**. Brasília, 2007.

ASSANVO, E., F.; KALITA, M.; SAIKIA M.; BARUAH, S.D. Aqueous extraction of ricinodendron heudelotii oil and direct miniemulsion polymerization of the oil-in-water fraction. **Industrial Crops and Products**, v. 81, p. 30-37, 2016.

ASSUNÇÃO, J. M. P. **Contribuição para o estudo da composição lipídica e do valor nutricional de leites e produtos lácteos dos açores**. 2007. 113 f. Dissertação (Mestrado em Controle da qualidade e toxicologia dos alimentos), Faculdade de Farmácia, Universidade de Lisboa, Lisboa, 2007.

ATTIA, Y. A.; AL-HARTHI, M. A.; KORISH, M. A.; SHIBOUB, M. M. Fatty acid and cholesterol profiles and hypocholesterolemic, atherogenic, and thrombogenic indices of table eggs in the retail market. **Lipids Health Dis**, v. 14, n. 136, p. 1-8. 2015.

AZEVEDO, A. B. A.; KOPCAK, U.; MOHAMED, R. S. Extraction of fat from fermented Cupuassu seeds with supercritical solvents. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 27, p. 223-237, 2003.

BARROS, H. R. M.; GARCÍA-VILLALBA, R.; TOMÁS-BARBERÁN, F. A.; GENOVESE M. I. Evaluation of the distribution and metabolism of polyphenols derived from cupuassu (*Theobroma grandiflorum*) in mice gastrointestinal tract by UPLC-ESI/TOF. **Journal of Functional Foods**, v. 22, p. 477-489, 2016.

BEYNON, R. J.; BOND, J. S. *Proteolytic Enzymes: A practical Approach*. New York: Oxford University Press, 1996.

BEZERRA, C. V.; RODRIGUES, A. M.; OLIVEIRA, P. D.; SILVA, D. A.; SILVA, L. H., M. Technological properties of amazonian oils and fats and their applications in the food industry. **Food Chemistry**, v. 221, p. 1466-1473, 2017.

BHAT, M. K. Cellulases related enzymes in biotechnology. **Biotechnology Advances**, v. 18, p.355-383, 2000.

BINKOSKI, A. E. et al. Balance of unsaturated fatty acids is important to a cholesterol-lowering diet: comparison of mid-oleic sunflower oil and olive oil on cardiovascular disease risk factors. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 105, n. 7, p. 1080-1086, 2005.

BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. **Introdução a Química de Alimentos**. 2º Ed. São Paulo: Livraria Varela, 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n. 270, 22 de setembro de 2005. Dispõe sobre regulamento técnico para óleos vegetais, gorduras vegetais e creme vegetal. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, 2005. Disponível em: < https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2005/rdc0270_22_09_2005.html#:~:text=Regulamento%20T%C3%A9cnico%20sobre%20as%20Condi%C3%A7%C3%B5es,Bras%C3%ADlia%2C%20DF%2C%2001%20ago. Acesso em: 23 jul. 2022.

CARVALHO, A. V.; GARCÍA, N. H. P.; WADA, J. K. A. Caracterização físico-química e curvas de solubilidade proteica de sementes, amêndoas fermentadas e torradas de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* Schum). **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 8, n. 2, p. 127-134, 2005.

CARVALHO, A. V.; PEZOA-GARCÍA, N. H.; AMAYA-FARFAN, J. Physicochemical properties of the flour, protein concentrate, and protein isolate of the cupuassu (*Theobroma grandiflorum* Schum) seed. **Journal of Food Science**, v. 71, n. 8, p. S573- S578, 2006.

CASTELO-BRANCO, V. N.; TORRES, A. G. Capacidade antioxidante total de óleos vegetais comestíveis: determinantes químicos e sua relação com a qualidade dos óleos. **Revista Nutrição**, v. 24, n. 1, p. 173-187, 2011.

CASTRO A. M. de; PEREIRA J. R. N. Produção, propriedades e aplicação de celulases na hidrólise de resíduos agroindustriais. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 181-188, 2010.

CHAIYASIT, W.; ELIAS, R. J; MCCLEMENTS, D. J; DECKER, E. A. Role of physical structures in bulk oils on lipid oxidation. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 47, p. 299-317, 2007.

CHEYNIER, V. Polyphenols in foods are more complex than often thought. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 81, n. 1, p. 223-229, 2005.

CHEYNIER, V.; GILLES COMTE, G.; DAVIES, K. M.; LATTANZIO, V.; MARTENS, S. Plant phenolics: recent advances on their biosynthesis, genetics, and ecophysiology. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 72, p. 1-20, 2013.

CHOE, E.; MIN, D. B. Mechanisms and factors for edible oil oxidation. **Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 5, n. 4, p. 169-186, 2006.

CHUNDAWAT, S. P. S.; BECKHAM, G. T.; HIMMEL, M. E.; DALE, B. E. Deconstruction of Lignocellulosic Biomass to Fuels and Chemicals. **Annual Review of Chemical and Biomolecular Engineering**, v. 2, p. 121-45, 2011.

COATES, J.; MEYERS, R. A. **Encyclopedia Analytical Chemistry**. Chichester: John Wiley & Sons, 2000.

CODEX ALIMENTARIUS. **Standard for Named Vegetable Oils**. Codex Stan 210. 1999. Disponível em: http://www.fao.org/faowhocodexalimentarius/shpr1?url=https%253A%252F%252Fwokspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FStandards%252FCODEX%252FBSTAN%252B2101999%252FCXS_210e.pdf. Acesso em: 23 jan. 2021.

COHEN, K. O. **Estudo do processo de temperagem do chocolate ao leite e de produtos análogos elaborados com líquido e gordura de cupuaçu**. 2003. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, 2003.

CONAB. **Boletim da Sociobiodiversidade**, v. 1, n. 3, p. 1-37, 2017. Disponível em: https://www.conab.gov.br/info-agro/analises-do-mercado-agropecuário-e-extrativista/boletim-da-sociobiodiversidade/boletim-sociobio/item/download/22555_c13c8c8b1715ca24839a7c59be325ab. Acesso em: 22 jul. 2022.

CONI, E.; PODESTA, E.; CATONE, T. Oxidizability of different vegetable oils evaluated by thermogravimetric analysis. **Thermochimica Acta**, v. 418, p. 11-15, 2004.

CONTRERAS-CALDERÓN, J.; CALDERON-JAIMES, L.; GUERRA-HERNANDEZ, E.; GRACÍA-VILLANOVA, B. Antioxidant capacity, phenolic content and vitamin C in pulp, peel

and seed from 24 exotic fruits from Colombia. **Food Research International**, v. 44, p. 2047-2053, 2011.

COSTA, M. P.; MONTEIRO, M. L. G.; FRASÃO, B. S.; SILVA, V. L. M.; RODRIGUES, B. L.; CHIAPPINI, C. C. J.; CONTE-JUNIOR, C. A. Consumer perception, health information, and instrumental parameters of cupuassu (*Theobroma grandiflorum*) goat milk yogurts. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 1, p. 157-168, 2017.

CUCAITA, N. A.; HERNÁNDEZ, M. S.; GUTIÉRREZ, R. H. Comparison between chocolate and an analog product made from cucuaçu (*Theobroma grandiflorum*). **Acta Horticulturae**, v. 1047, p. 231-236, 2014.

DAI, J.; MUMPER, R. J. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. **Molecules**, v. 15, n. 10, p. 7313–7352, 2010.

DÍAZ-SUÁREZ, P.; ROSALES-QUINTERO, A.; FERNANDEZ-LAFUENTE, R.; POLA-SÁNCHEZ, E.; HERNÁNDEZ-CRUZ, M. C.; OVANDO-CHACÓN, S. L.; RODRIGUES, R. C.; TACIAS-PASCACIO, V. G. Aqueous enzymatic extraction of *Ricinus communis* seeds oil using Viscozyme L. **Industrial Crops and Products**, v. 170, p. 113-121, 2021.

DORNI, C.; SHARMA, P.; SAIKIA, G.; LONGVAH, T. Fatty acid profile of edible oils and fats consumed in India. **Food Chemistry**, v. 238, p. 9–15, 2018.

DURÃES, J. A.; DRUMMOND, A. L.; PIMENTEL, T.; MURTA, M. M.; MOREIRA, S.; SALES, M. Thermal and structural behavior of buriti oil/ poly (methyl methacrylate) and buriti oil/ polystyrene materials. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 92, n. 2, p. 529–534, 2008.

FACCIOLI G.; BARBOSA L. A. ; OLIVEIRA S. M.; ANTUNES NETO J. M. F. Sustentabilidade na gestão da indústria têxtil: aplicações enzimáticas no tratamento de efluentes. **Revista Prospectus**, v. 2, n. 1, p. 190-233, 2020.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Food and Nutrition Paper 91. Fats and fatty acids in human nutrition – Report of an expert consultation**. Rome, 2010.

FARIA, E. A.; LELES, M. I. G.; IONASHIRO, M.; ZUPPA, T. O.; ANTONIOSI FILHO, N. R. Thermal stability of vegetal oils and fats by TG/DTG and DTA. **Eclética Química**, v.27, 2002.

FARINAS, C. S. **A parede celular vegetal e as enzimas envolvidas na sua degradação**. São Carlos: Embrapa Instrumentação, 2011.

FERREIRA, B. S.; ALMEIDA, C. G.; FAZA, L. P.; ALMEIDA, A.; DINIZ, C. G.; SILVA, V. L.; GRAZUL, R. M.; HYARIC, M. Comparative properties of amazonian oils obtained by different extraction methods. **Molecules**, v. 16, p. 5875-5885, 2011.

FERREIRA, E. S.; ROGEZ, H. L. G.; HERMAN, C. A. N. P. Effect of the combination of enzymatic preparations on the aqueous extraction yield of the oil from the pulp of *Euterpe oleracea* fruit. **Brazilian Journal of Chemical Engineering** , v. 35, n. 4, p. 1193-1201 , 2018.

FLOEGEL, A.; KIM, D. O.; CHUNG, S. J.; KOO, S. I.; CHUN, O. K. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, n. 7, p. 1043-1048, 2011.

FREIRE R. M. M.; SANTOS R. C.; ZAGONEL G. F.; COSTA, B. J. Relação oleico/linoleico de linhagens avançadas de amendoim. In: IV Congr. Bras. Mamona e I Simpósio Int. Ol. Energéticas, 2010, João Pessoa.

FREIRE, L. M. S.; FILHO, J. R. C.; MOURA, C. V. R.; SOLEDADE, L. E. B.; STRAGEVITCH, L.; CORDEIRO, A. M.; SANTOS, I. M. G.; SOUZA, A. G. Evaluation of the oxidative stability and flow properties of quaternary mixtures of vegetable oils for biodiesel production. **Fuel**, v. 95, p. 126–130, 2012.

FRUTA. [imagem disponibilizada pela internet]. Disponível em: <https://www.todafruta.com.br>. Acesso em: 20 out. 2019.

GARCIA J. U.; SANTOS, H. I.; FIALHO, A. P.; GARRO, F. L. T.; ANTONIOSI FILHO, N. R.; LELES M. I. G. Estudo da estabilidade térmica de óleos de peixes em atmosfera de nitrogênio. **Eclética Química**, v. 29, n. 2, p. 41-46, 2004.

GARCÍA-GONZÁLEZ, D. L.; BAETEN, V.; FERNÁNDEZ PIERNA, J. A.; TENA, N. **Handbook of olive oil: Analysis and properties**. New York: Springer, 2013.

GENCKAL, H., TARI, C. Alkaline protease production from alkalophilic *Bacillus* sp. Isolated from natural habitats. **Enzyme and Microbial Technology**, 39:703-710, 2006.

GENOVESE, M. I.; LANNES, S. C. S. Comparison of total phenolic content and antiradical capacity of powders and “chocolates” from cocoa and cupuassu. **Food Science and Technology**, v. 29, n. 4, p. 810-814, 2009.

GHARRAS, H. E. L. Polyphenols: food sources, properties and applications – a review. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 44, n. 12, p. 2512–2518, 2009.

GIL, E. A. **Controle físico-químico de qualidade de medicamentos**. 3. ed. São Paulo: Pharmabooks, 2010.

GILBERT-ESCRIVA M. V.; GONÇALVES L. A. G.; SILVA C R. S; FIGUEIRA A Fatty acid and triacylglycerol composition and thermal behaviour of fats from seeds of Brazilian Amazonian species. **Journal of Science of Food and Agriculture**, v. 82, p. 1425-1431, 2002.

GIL-CHÁVEZ, G. J., VILLA, J. A., AYALA-ZAVALA, J. F., HEREDIA, J. B., SEPULVEDA, D., YAHIA, E. M., GONZÁLEZ-AGUILAR, G. A. Technologies for extraction and production of bioactive compounds to be used as nutraceuticals and food ingredients: an overview. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 12, p. 5-23, 2013.

GOMES, C. A. O; PINTO, G. A. S.; TERZI, S. C.; FREITAS, S. P. ; COURI, S. Aqueous Enzymatic Extraction of Peach Palm Oil . **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 5, p. 211-216, 2002 .

GONÇALVES, R. P.; MARÇO, P. H.; VALDERRAMA, P. Thermal edible oil evaluation by UV-Vis spectroscopy and chemometrics. **Food Chemistry**, v. 163, p. 83-86, 2014.

GUNSTONE, F. D. **Vegetable oil in food technology: Composition, properties and uses (2nd ed.)**. Wiley Blackwell, 2011.

HAMINIUK, C. W. I.; MACIEL, G. M.; PLATA-OVIEDO, M. S. V.; PERALTA, R. M. Phenolic compounds in fruits - an overview. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 47, n. 10, p. 2023-2044, 2012.

HAYOUNI, E. A.; ABEBRADDA, M.; BOUIX, M.; HAMDI, M. The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. **Food Chemistry**, v. 105, p. 1126-1134, 2007.

HEIRD, W. C.; LAPILLONNE, A. The role of essential fatty acids in development. **Annual Reviews of Nutrition**, v. 25, p. 549-571, 2005

HOLLER, F.J.; SKOOG, D. A.; CROUCH, S.R. **Princípios de Análise Instrumental**. 6. Ed. Porto Alegre: Bookman, 2009.

HU, B.; WANG H., HE, L.; LI, Y., LI, ; ZHANG, Z.; LIU, Y.; ZHOU, K.; QING, Z.; LIU, A.; LIU, S.; ZHU, Y.; LUO, Q. A method for extracting oil from cherry seed by ultrasonic-microwave assisted aqueous enzymatic process and evaluation of its quality. **Journal of Chromatography A**, v. 1587, p. 50- 60, 2019.

HU, F.B., MANSON, J.E., WILLETT, W.C. Types of dietary fat and risk of coronary heart disease: a critical review. **Journal of American College of Nutrition**, v. 20, n. 1, p. 5-19, 2001.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Censo Agropecuário 2017**. 2017. Disponível em: <https://censoagro2017.ibge.gov.br/templates/censoagro/resultadosagro/index.html>. Acesso em: 23 jul. 2022.

IONASHIRO, M. **Fundamentos da Termogravimetria, Análise Térmica Diferencial e Calorimetria Exploratória Diferencial**. São Paulo: Giz, 2005.

IPEA - INSTITUTO DE PESQUISA ECONÔMICA APLICADA. **Biodiesel no Brasil: desafios das políticas públicas para a dinamização da produção**. Brasília, 2012. Disponível em: http://www.ipea.gov.br/portal/index.php?option=com_content&view=article&id=1335. Acesso em: 22 jul. 2022.

JIANG, L.; HUA, D.; WANG, Z.; XU, S.. Aqueous enzymatic extraction of peanut oil and protein hydrolysates. **Food and Bioproducts Processing**, v. 88, p. 233–238, 2010

JIAO JIAO; ZHU-GANG LI; QING-YAN GAI; XIAO-JUAN LI; FU-YAO WEI; YU-JIE FU; WEI MA. Microwave-assisted aqueous enzymatic extraction of oil from pumpkin seeds and evaluation of its physicochemical properties, fatty acid compositions and antioxidant activities. **Food Chemistry**, v. 147, p. 17–24, 2014.

JONES, P. J. H.; MACKAY, D. S.; SENANAYAKE, V. K.; PU, S.; JENKINS, D. J. A.; CONNELLY, P. W. High-oleic canola oil consumption enriches LDL particle cholesteryl oleate content and reduces LDL proteoglycan binding in humans. **Atherosclerosis**, v. 238, n. 2, 231-238, 2015.

JUNG, S., MAURER, D., JOHNSON, L. A. Factors affecting emulsion stability and quality of oil recovered from enzyme-assisted aqueous extraction of soybeans. **Bioresource Technology**, v. 100, p. 5340-5347, 2009.

KALIA V. C.; RASHMI, L. A. L. S, GUPTA M. N. Using Enzymes for Oil Recovery from Edible Seeds. **Jurnal of Scientific & Industrial Research**, v. 60, n. 4, p. 298-310, 2001.

KARMAKAR, M.; RAY, R.R. Current Trends in Research and Application of Microbial Cellulases. **Research Journal of Microbiology**, v. 6, p. 41-53, 2011.

KAWAZOE, A. K. Dossiê óleos. **Food Ingredients Brasil**, v. 16, p. 42 - 56, 2014.

KAYSHAP, D. R.; VOHRA, P. K.; CHOPRA, S.; TEWARI, R. **Bioresource Technology**, v.77, p.215, 2001.

KINNEY, A.J. Genetic modification of plant oils for food uses. In: SHETTY, K.; PALIYATH, G.; POMETTO, A.; LEVIN, R.E. **Food biotechnology**. New York: CRC Press, 2006, p.723-733.

KOBLITZ, G. G. B. **Bioquímica dos alimentos: teoria e prática**. Rio de Janeiro: Ganabara Koogan, 2010.

KOOLEN, H. H. F.; SILVA, F. M. A.; GOZZO, F. C.; SOUZA, A. Q. L.; SOUZA, A. D. L. Antioxidant, antimicrobial activities and characterization of phenolic compounds from buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.) by UPLC–ESI-MS/MS. **Food Research International**, v.51, p. 467–473, 2013.

KROMHOUT, D. et al. Fish oil and omega-3 fatty acids in cardiovascular disease: do they really work? **European Heart Journal**, v. 33, n. 4, p. 436-43, 2012.

LAMSAL, B.; JOHNSON, L. Separating oil from aqueous extraction fractions of soy bean. **Journal of the American Oil Chemists 'Society**, v. 84, p. 85-792, 2007.

LANDETE, J. M. Updated knowledge about polyphenols: functions, bioavailability, metabolism, and health. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 52, n. 10, p. 936-948, 2012.

LEIVA, C. R. M.; CRNKOVIC, P. M.; SANTOS, A. M. O emprego da termogravimetria para determinar a energia de ativação do processo de combustão de óleos combustíveis. **Química Nova**, v. 29, n. 5, p. 940-946, 2006.

LEWANDOWSKA, U.; SZEWCZYK, K.; HRABEC, E.; JANECKA, A.; GORLACH, S. Overview of metabolism and bioavailability enhancement of polyphenols. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n. 50, p. 12183–12199, 2013.

LIRA, G. B.; LOPES, A. S. C.; NASCIMENTO, F. C. A.; CONCEIÇÃO, G. S.; BRASIL, D. S. B. Processos de extração e usos industriais dos óleos de andiroba e açai: uma revisão. **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento**, v. 10, n. 12, p. e229101220227, 2021.

MALTA, L.G. **Avaliação biológica de frutas do cerrado brasileiro: guapeva, gabioba e murici**. 2011.Tese de Doutorado Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011.

MARSZALEK, J. R., LODISH, H. F. Docosahexaenoic acid, fatty acid-interacting proteins, and neuronal function: breastmilk and fish are good for you. **Annual Review of Cellular Development Biology**, v. 21, p. 633-657, 2005.

MARTIN, C. A.; ALMEIDA, V. V.; RUIZ, M. R.; VISENTAINER, J. E. L.; MATSHUSHITA, M.; SOUZA, N. E.; VISENTAINER, J. V. Ácidos graxos polinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Revista Nutrição**, v.19, p.761-770, 2006.

MARTÍNEZ-VALVERDE, I.; PERIAGO, M. J.; ROS, G. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 50, p. 5-18, 2000.

MARTOS, M. A.; ZUBRESKI, E. R.; GARRO, O. A.; HORAS, R. A. Production of pectinolytic enzymes by the yeast *Wickerhamomyces anomalus* isolated from citrus fruits peels. **Biotechnology Research International**, v. 2013, Article 435154, 2013.

ME - MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO. Secretaria de Educação Profissional e Tecnológica. **Cupuaçu**. Brasília, 2007.

MENDONÇA, A. P.; ALMEIDA, F. A. C.; OLIVEIRA, A. S.; ROSA, J. C.; ARAÚJO, M. E. R.; SAMPAIO, P. T. B. Extração de óleo de andiroba por prensa: rendimento e qualidade de óleo de sementes submetidas a diferentes teores de água e temperatura de secagem. **Scientia Florestalis**, v. 48, n. 125, p. e2995, 2020. Disponível em: <https://www.ipef.br/publicacoes/scientia/nr125/2318-1222-scifor-48-125-e2995.pdf>. Acesso em: 23 jul. 2022.

MERRILL, L.; PIKE, A.; OGDEN, V.; DUNN, L. Oxidative stability of conventional and high-oleic vegetable oils with added antioxidants. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 85, p. 771-776, 2008.

MORAES, F. P.; COLLA, L. M. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 3, n. 2, p. 109-122, 2006.

MORETTO, E.; FETT, R.; GONZAGA, L. V. **Introdução à Ciência de Alimentos**. Ed. da UFSC: Florianópolis, 2002. 255 p

MOTHÉ, C. G.; AZEVEDO, A. D. **Análise Térmica de Materiais**. São Paulo, 2002.

MOZAFFARIAN, D. E.; WU, J. H. Y. Omega-3 fatty acids and cardiovascular diseases: effects on risk factors, molecular pathways, and clinical events. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 58, n.20, p. 2047- 2067, 2011.

MURAD, H. A.; AZZAZ, H. H. Microbial pectinases and ruminant nutrition. **Research Journal of Microbiology**, v. 6, n. 3, p. 246-269, 2011.

MUSSATTO, S. I.; FERNANDES, M.; MILAGRES, A. M. F. Enzimas: Poderosa ferramenta na indústria. **Ciência Hoje**, v. 242, p. 28, 2007.

NARRA, M.; DIXIT, G.; DIVECHA, J.; KUMAR, K.; MADAMWAR, D.; SHAH, A. R. Production, purification, and Characterization of a novel GH 12 family endoglucanase from *Aspergillus terreus* and its application in enzymatic degradation of delignified rice straw. **International Biodeterioration e Biodegradation**, v. 88, p. 150-161, 2014.

NAZARÉ, R. F. R.; BARBOSA, W. C.; VIÉGAS, R. M. F. **Processamento das sementes de cupuaçu para obtenção do cupulate**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 1990.

NGUYEN, H. C.; VUONG, D. P.; NGUYEN, N. T. T.; NGUYEN, N. P.; SU, C. H.; WANG, F. M., et al. Aqueous enzymatic extraction of polyunsaturated fatty acid-rich sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) seed oil: An eco-friendly approach. **LWT - Food Science and Technology**, v. 133, Article 109992, 2020.

OGEDA T. L.; PETRE D. F. S. Hidrólise enzimática de biomassa. **Química Nova**, v. 33, n. 7, p. 1549-1558, 2010.

OLIVEIRA P. D.; SILVA D. A.; PIRES W. P.; BEZERRA C. V.; SILVA L. H. M.; RODRIGUES A. M. C. Interesterification effect on the physicochemical and technological properties of cupuassu seed fat and inaja pulp oil blends. **Food Research International**, v. 145, p. 110384, 2021.

OLIVEIRA, T. B. de; GENOVESE, M. I. Chemical composition of cupuassu (*Theobroma grandiflorum*) and cocoa (*Theobroma cacao*) liquors and their effects on streptozotocin-induced diabetic rats. **Food Research International**, v. 51, n. 2, p. 929-935, 2013.

OLSSON, L; HÄGERDAL, B. H. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates for ethanol production. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 18, n. 5, p. 312-331, 1996.

PARDAUIL, J. J. R., SOUZA, L. K. C., MOLFETTA, F. A., ZAMIAN, J. R., FILHO, G. N. R., COSTA, C. E. F. da. Determination of the oxidative stability by DSC of vegetable oils from the Amazonian area. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 5873–5877, 2011.

PARKER, T. D. et al. Fatty acid composition and oxidative stability of cold-pressed edible seed oils. **Journal of Food Science**, v. 68, n. 4, p. 1240–1243, 2003.

PARRA, R. G. C.; DUAILIBI, S. R. **Uso de alimentos funcionais: os principais e as quantidades necessárias para se obter o apelo de saudabilidade**. In: TORRES, E. A. F. S. (Ed.) Alimentos do milênio: importância dos transgênicos, funcionais e fitoterápicos para a saúde. São Paulo: Signus Editora, p. 1–14, 2002.

PATYSHAKULIYEV, A. Fungal Proteases: Current and Potential Industrial Applications. **Encyclopedia of Mycology**, v. 2, p. 348-357, 2021.

PENGFEEI, L.; WENBIN, Z.; XIN, H. Demulsification of oil-rich emulsion and characterization of protein hydrolysates from peanut cream emulsion of aqueous extraction processing. **Journal of Food Engineering**, v. 204, p. 64-72, 2017.

PEREIRA, A. E.; FERREIRA M.; SAMPAIOA, K.; GRIMALDIB, R.; MEIRELLESA, A.; MAXIMO G. Physical properties of Amazonian fats and oils and their blends. **Food Chemistry**, v. 278, p. 208-215, 2019.

PEREIRA, A. L. F.; ABREU, V. K. G.; RODRIGUES, S. Cupuassu – *Theobroma grandiflorum*. **Exotic Fruits**, v. 1, p. 159-162, 2018.

PESCE, C. **Oleaginosas da Amazônia**. 2.ed., rev. Atual. Belém: Museu Paraense Emilio Goeldi; Núcleo de Estudos Agrários e Desenvolvimento Rural, 2009.

PINENT, M.; CASTELL-AUVÍ, A.; GENOVESE, M. I.; SERRANO, J.; CASANOVA, A., BLAY, M.; ARDÉVOL, A. Antioxidant effects of proanthocyanidin-rich natural extracts from grape seed and cupuassu on gastrointestinal mucosa. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 96, n. 1, p. 178-182, 2015.

PINTO, R. H. H.; SENA, C.; SANTOS, O. V.; COSTA, W. A. DA; RODRIGUES, A. M. C.; JUNIOR, R. N. C. Extraction of bacaba (*Oenocarpus bacaba*) oil with supercritical CO₂: Global yield isotherms, fatty acid composition, functional quality, oxidative stability, spectroscopic profile and antioxidant activity. **Grasas y Aceites**, v. 69, n. 2, p. 1-8, 2018.

PIPOLO, A. E.; HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J. C.; BALBINOT JUNIOR, A. A.; DEBIASI, H.; MANDARINO, J. M. G. **Teores de óleo e proteína em soja: fatores envolvidos e qualidade para a indústria**. Londrina: Embrapa Soja, 2015. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/130450/1/comunicado-tecnico-86OL.pdf> f. Acesso em: 23 jul. 2022.

POPESCU, R.; COSTINEL, D.; DINCA, O. R.; MARINESCU, A.; STEFANESCU, I.; IONETE, R. E. Discrimination of vegetable oils using NMR spectroscopy and chemometrics. **Food Control**, v. 48, p. 84-90, 2015.

PUGLIESE, A. G.; TOMÁS-BARBERAN, F. A.; TRUCHADO, P.; GENOVESE, M. I. Flavonoids, proanthocyanidins, vitamin c, and antioxidant activity of *Theobroma grandiflorum* (cupuassu) pulp and seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, p. 2720-2728, 2013.

QI, Q. Study on extraction of pumpkin seed oil by aqueous enzymatic method. **Journal of Anhui Agriculture Science**, v. 40, p. 7410-7413, 2012.

QUIRÓS-SAUCEDA, A. E.; PALAFOX-CARLOS, H.; SÁYAGO-AYERDI, S. G.; AYALAZAVALA, J. F.; BELLO-PEREZ, L. A.; ALVAREZ-PARRILLA, E.; DE LA ROSA, L. A.; GONZÁLEZ-CÓRDOVA, A. F.; GONZÁLEZ-AGUILAR, G. A. Dietary fiber and phenolic compounds as functional ingredients: interaction and possible effect after ingestion. **Food & Function**, v. 5, n. 6, p. 1063-1072, 2014.

RAO, R.; SANKAR, K. U.; SAMBAIAH, K.; LOKESH, B. R. Differential scanning calorimetric studies on structured lipids from coconut oil triglycerides containing stearic acid. **European Food Research and Technology**, v. 212, n. 3, p. 334-343, 2001.

RE, R.; PELEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICEEVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 26, p. 1231-1237, 1999.

RIBEIRO, J. C. **Avaliação do potencial mutagênico e antimutagênico da polpa de açaí (*Euterpe oleracea* Mart) e do óleo de buriti (*Maurita flexuosa*) in vivo**. 2010. Tese de Doutorado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Ribeirão Preto, 2010.

RIBEIRO, S. A. O.; NICACIO, A. E.; ZANQUI, A. B.; BIONDO, P. B. F.; ABREU-FILHO, B. A.; VISENTAINER, J. V.; GOMES, S. T. M.; MATSUSHITA, M.. Improvements in the quality of sesame oil obtained by a green extraction method using enzymes. **Food Science and Technology**, v. 65, p. 464-470, 2016.

RILEY, C. B.; McCLURE, J. T.; LOW-YING, S.; SHAW, R. A. Use of Fourier transform infrared spectroscopy for the diagnosis of failure of transfer of passive immunity and measurement of immunoglobulin concentrations in horses. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 21, p. 828-834, 2007.

RODRIGUES, A. M. C.; DARNET, S.; SILVA, L. H. M. Fatty Acid Profiles and Tocopherol Content of Buriti (*Mauritia flexuosa*), Patawa (*Oenocarpus bataua*), Tucuma (*Astrocaryum vulgare*), Mari (*Poraqueiba paraensis*) and Inaja (*Maximiliana maripa*) Fruits. **Journal Brazilian Chemical Society**, v. 21, n. 10, 2010.

RODRIGUEZ-CONCEPCION, M.; AVALOS, J.; BONET, M. L.; BORONAT, A.; GOMEZ-GOMEZ, L.; HORNERO-MENDEZ, D. A global perspective on carotenoids: Metabolism, biotechnology, and benefits for nutrition and health. **Progress in Lipid Research**, v. 70, p. 62-93, 2018.

ROHAETI, E.; RAFI, M.; SYAFITRI, U. D.; HERYANTO, R. Fourier transform infrared spectroscopy combined with chemometrics for discrimination of curcuma longa, *Curcuma xanthorrhiza* and *Zingiber cassumunar*. **Spectrochimica Acta Part A Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 137, p. 1244-1249, 2015.

ROHENKOHL, C. C.; CARNIEL, A. P.; COLPO, E. Consumo de Antioxidantes Durante Tratamento Quimioterápico. **ABCD Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva**, v. 24, p. 107-112, 2011.

ROSENTHAL, A.; PYLE, D. L.; NIRANJAN, K. Aqueous and enzymatic processes for edible oil extraction. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 19, p. 402-420, 1996.

ROVARIS, A. A.; BALSAMO, G. M.; COSTA, A. C. O.; ARISI, A. C. M.; MICKE, G. A.; PIOVEZAN, M.; ET AL. Chemical characterization of liquid residues from aqueous enzymatic extraction of soybean oil. **LWT - Food Science and Technology**, v. 51, n. 1, p. 51-58, 2013.

SAAD, B.; WAI, W. T.; LIM, B. P. Comparative study on oxidative decomposition behavior of vegetable oils and its correlation with iodine value using thermogravimetric. **Journal of Oleo Science**, v. 57, p. 257-261, 2008.

SANTI, L.; BERGER, M.; BEYS DA SILVA, W.O. Pectinases e Pectina: Aplicação Comercial e Potencial Biotecnológico. **Caderno Pedagógico**, v. 11, n. 1, p. 130-139, 2014.

SANTOS, A. C.; FERREIRA, P. M.; LOPES, C. L.; BRAGA, M.; VIANA, N. M. **Estudo prospectivo de óleos vegetais**. Brasília: Embrapa Agroenergia, 2022b.

SANTOS, M. D. S.; PETKOWICZ, C. L. O.; HAMINIUK, C. W. I.; CÂNDIDO, L. M. B. Polissacarídeos extraídos da gabioba (*Campomanesia xanthocarpa* Berg): propriedades químicas e perfil reológico. **Polímeros**, v. 20, p. 352-358, 2010.

SANTOS, O. V.; CARVALHO, R. N.; COSTA, C. E. F.; LANNES, S. C. S. Chemical, chromatographic-functional, thermogravimetric differential and spectroscopic parameters of the sapucaia oil obtained by different extraction methods. **Industrial Crops and Products**, v. 132, p. 487-496, 2019.

SANTOS, O. V.; CORRÊA, N.C.F.; SOARES, F.A.S.M.; GIOIELL, L.A.; COSTA, C.E.F.; LANNES, S.C.S. Chemical evaluation and thermal behavior of Brazil nut oil obtained by different extraction processes. **Food Research International**, v. 47, p. 253-258, 2012.

SANTOS, R. D.; FERRARI, R. A. Extração aquosa enzimática de óleo de soja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 1, p. 132-138, 2005.

SANTOS, W. O.; RODRIGUES A. M. C.; SILVA, L. H. M. Chemical properties of the pulp oil of tucuma-i-da-várzea (*Astrocaryum giganteum* Barb. Rodr.) obtained by enzymatic aqueous extraction. **LWT - Food Science and Technology**, v. 163, Article 113534, 2022a.

SANTOS-SILVA, J.; BESSA, R. J. B.; SANTOS-SILVA, F. Effect of genotype, feeding system and slaughter weight on the quality of light lambs: Fatty and composition of meat. **Livestock Production Science**, v. 77, n. 2, p. 187-194, 2002.

SCHAEFER, E. J. Effects of dietary fatty acids on lipoproteins and cardiovascular disease risk: summary. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 65, p. 1655S–1656S, 1997

SCRIMGEOUR, C. **Chemistry of Fatty Acids** In: SHAHIDI, F. (Org.) *Bailey's Industrial Oil & Fat Products*, 6^a ed. v.1, John Wiley & Son, New York, 2005.

SEDAP, Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e da Pesca do estado do Pará (2020). Governo do Estado do Pará. SEDAP. <http://www.sedap.pa.gov.br/agricultura.php>. Acesso em 14 de julho de 2022.

SEKHON, J. K.; JUNG, S.; WANG, T.; ROSENTRATER, K. A.; JOHNSON, L. A. Effect of co-products of enzyme-assisted aqueous extraction of soybeans on ethanol production in drygrind corn fermentation. **Bioresource Technology**, v. 192, p. 451-460, 2015.

SERRA, J. L.; RODRIGUES, A. M. C.; FREITAS, R. A.; MEIRELLES, A. J. A.; DARNET, S. H.; SILVA, L. H. M. (2019). Alternative sources of oils and fats from amazonian plants: Fatty acids, methyl tocols, total carotenoids and chemical composition. **Food Research International**, v. 116, p. 12-19.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. **Food phenolics: sources, chemistry, effects and applications**. Lancaster: Technomic, 1995.

SILVA, J. P.P.; RODRIGUES A. M. C.; SILVA, L. H. M. Aqueous Enzymatic Extraction of Buriti (*Mauritia Flexuosa*) Oil: Yield and. Antioxidant Compound. **The Open Food Science Journal**, v. 11, p. 9-17, 2019.

SILVA, L. H. M., PINHEIRO, R., P., LADYSLENE., FERNANDES, K., RODRIGUES A. M. C. Chemical and Nutrition Potential of Amazonian Seeds: Cupuassu and Tucuman. **Food and Public Health**, v. 8, p. 57-64, 2018.

SILVA, R. C.; SOARES, D. F.; LOURENÇO, M. B.; SOARES, F. A. S. M.; SILVA, K. G.; GONCALVES, M. I. A.; GIOIELLI, L. A. Structured lipids obtained by chemical interesterification of olive oil and palm stearin. **Food Science and Technology**, v. 43, p. 752-758, 2010.

SINGHANIA, R. R.; SUKUMARAN, R. K.; PATEL, A. K.; LARROCHE, C.; PANDEY, A. Advancement and comparative profiles in the production technologies using solid-state and

submerged fermentation for microbial cellulases. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 46, p. 541-549, 2010.

SINGLETON V. L., ROSSI J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, p. 144-168, 1965.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de análise instrumental**. 5.ed. São Paulo: Bookman, 2002.

SOARES S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v. 15, n. 1, p. 71-81, 2002.

SOCHA, L. B.; PINHEIRO, R. B. M. Cupuaçu: a fruta globalizada – estudo de caso. **Revista Gestão & Sustentabilidade Ambiental**, v. 4, p. 554-567, 2016.

SOH, L.; ZIMMERMAN, J. Biodiesel production: the potencial of algal lipids extracted with supercritical carbon dioxide. **Green Chemistry**, v. 13, p. 1422-1429, 2011.

SOMERVILLE, C. et al. Lipids. In: BUCHANAN, B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. (Eds.) **Biochemistry & Molecular Biology of Plants**. Rockville. American Society of Plant Physiologists, 2000.

SOUSA, C. M. M.; ROCHA E SILVA, H.; VIEIRA-JR, G.M.; AYRES, M. C. C.; COSTA, C. L. S.; ARAUJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; BARROS, E. D. S.; ARAUJO P. B. M.; BRANDAO, M. S.; CHAVES, M. H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 351-355, 2007.

TANG, S.; QIN, C.; WANG, H.; LI, S.; TIAN, S. Study on supercritical extraction of lipids and enrichment of DHA from oil-rich microalgae. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 57, p. 44-49, 2011.

GENCKAL, H.; TARI, C. Alkaline protease production from alkalophilic *Bacillus* sp. isolated from natural habitats. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 39, n. 4, p. 703-710, 2006.

TEIXEIRA, C. B.; MACEDO G. A.; MACEDO, J. A.; SILVA, L. H. M.; RODRIGUES, A. M. da C. Simultaneous extraction of oil and antioxidant compounds from oil palm fruit (*Elaeis guineensis*) by an aqueous enzymatic process. **Bioresource Technology**, v. 129, p. 575-581, 2013.

THAKORE, S.; RATHORE, P. S.; JADEJA, R. N.; THOUNAOJAM, M.; DEVKAR, R. V. Sunflower oil mediated biomimetic synthesis and cytotoxicity of monodisperse hexagonal silver nanoparticles. **Materials Science and Engineering**, v. 44, p. 209-215, 2014.

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. **LWT - Food Science and Technology**, v. 2, Article 100090, 2022.

TIMILSENA, Y. P.; VONGSVIVUT, J.; ADHIKARI, R.; ADHIKARI, B. Physicochemical and thermal characteristics of Australian chia seed oil. **Food Chemistry**, v. 228, p. 394-402, 2017.

TUCK, K. L.; HAYBALL, P. J. Major phenolic compounds in olive oil: metabolism and health effects. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 13, n. 11, p. 636-644, 2002.

TURATTI, J.M. PASOTRE, G.M. **Extração de Óleos Vegetais Utilizando-se Enzimas no Pré-tratamento das Sementes**. 1999. Tese de Doutorado, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Campinas, SP. [s.n], 1999.

UENOJO, M.; PASTORE, G. M. Pectinases: aplicações industriais e perspectivas. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 388-394, 2007.

ULBRICHT, T. L. V., SOUTHGATE, D. A. T. Coronary heart disease: Seven dietary factors. **Lancet**, v. 338, p. 985-992, 2001.

USDA. United States Department of Agriculture. **Oilseeds: World Markets and trade (June/2022)**. Disponível em: <http://www.fas.usda.gov>. Acesso em: 15 jun. 2022.

VELDERRAIN-RODRÍGUEZ, G. R.; PALAFOX-CARLOS, H.; WALL-MEDRANO, A.; AYALA-ZAVALA, J. F.; CHEN, C. Y.; ROBLES-SÁNCHEZ, M.; ASTIAZARANGARCÍA, H.; ALVAREZ-PARRILLA, E.; GONZÁLEZ-AGUILAR, G. A. Phenolic compounds: their journey after intake. **Food Function**, v. 5, n. 2, p. 189-197, 2014.

VILALBA, F. A.; MARSAIOLI, A. J., PEZOA GARCIA, N. H. Fragmentação Mecânica de Amêndoas de Cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 3, p. 419-426, 2004.

VOGEL, A. I. **Análise química quantitativa**. 6. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2011.

WADA, J.K.A. **Produção de gorduras alimentícias zero trans utilizando óleo de palma, estearina de palma e óleo de soja totalmente hidrogenado**. Dissertação de mestrado, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Campinas, SP. [s.n], 2007.

WANG, L.; XU, Y.; YANG, Y.; SUN, X.. Aqueous enzymatic extraction of pumpkin seed oil and its physical-chemical properties. **Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering**, v. 27, p. 383-387, 2011.

YADAV, S.; YADAV, P. K.; YADAV, D.; YADAV, K. D. S. Pectin lyase: A review. **Process Biochemistry**, v. 44, p. 1-10, 2009.

YOON, L. W.; ANG, T. C.; NGOH, G. C.; CHUA, A. S. M. Fungal solid-state fermentation and various methods of enhancement in cellulose production. **Biomass and Energy**, v. 67, p. 319-338, 2014.

YUSOFF, M. M.; GORDON, M.H.; EZEH, O.; NIRANJAN, K. High pressure pre-treatment of *Moringa oleifera* seed kernels prior to aqueous enzymatic oil extraction. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 39, p. 129-136, 2017.

ZAMBIAZI, R. C.; ZAMBIAZI, M. Vegetable oil oxidation: effect of endogenous components. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 34, n. 1, p. 22-32, 2000.

ZHANG, S. B.; WANG, Z.; XU, S. Y. Optimization of the aqueous enzymatic extraction of rapeseed oil and protein hydrolysates. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 84, p. 97-105, 2007.

ZHANG, X.; LIU, H.; REN, J.; LI, J.; LI, X. Fourier transform infrared spectroscopy quantitative analysis of SF6 partial discharge decomposition components. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 136, p. 884-889, 2015.