



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

WANESSA OLIVEIRA DOS SANTOS

**ESTUDO DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO AQUOSA ENZIMÁTICA DO ÓLEO DA
POLPA DE TUCUMÃ-Í-DA-VÁRZEA (*Astrocaryum giganteum* Barb. Rodr.)**

BELÉM - PA

2022



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

WANESSA OLIVEIRA DOS SANTOS

**ESTUDO DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO AQUOSA ENZIMÁTICA DO ÓLEO DA
POLPA DE TUCUMÃ-Í-DA-VÁRZEA (*Astrocaryum giganteum* Barb. Rodr.)**

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

Orientadora: Profa. Dra. Luiza Helena Meller da Silva.

BELÉM - PA

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)

S237e Santos, Wanessa Oliveira.
ESTUDO DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO AQUOSA
ENZIMÁTICA DO ÓLEO DA POLPA DE TUCUMÃ-Í-DA-
VÁRZEA (*Astrocaryum giganteum* Barb. Rodr.) / Wanessa
Oliveira Santos. — 2022.
81 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. enzima, extração, óleo, palmeiras, amazônia. I. Título.

CDD 664

WANESSA OLIVEIRA DOS SANTOS

**ESTUDO DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO AQUOSA ENZIMÁTICA DO ÓLEO DA
POLPA DE TUCUMÃ-Í-DA-VÁRZEA (*Astrocaryum giganteum* Barb. Rodr.)**

Data da Avaliação: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Luiza Helena Meller da Silva
(PPGCTA/ITEC/UFPA - Orientadora)

Profa. Dra. Edna Regina Amante
(PPGCTA/ITEC/UFPA – Membro Titular)

Prof. Dr. Gustavo Pereira Araújo
(PPGCTA/ITEC/UFPA – Membro Titular)

Prof. Dr. Davi do Socorro Barros Brasil
(PPGEQ/ITEC/UFPA – Membro Titular)

Pesquisadora Dra. Nayara Macêdo Peixoto
Araújo
(Membro Titular)

Prof. Dr. Nelson Rosa
(PPGCTA/ITEC/UFPA - Membro Suplente)

Prof. Dra. Gabriela Alves Macedo
(PPGAN/FEA/UNICAMP - Membro Suplente)

Esta Tese é dedicada à minha “grande família” que pelos desígnios de Deus, me acolheu e me mostra, todos os dias, o real significado de família e amor incondicional. Aos meus amores, Léo e Maju que são minha Luz e força.

AGRADECIMENTOS

Todo esforço, abdição, e sacrifícios experencializados nesse período, tornam-se ínfimo diante da gratidão que sinto pela conclusão deste sonho!

Agradeço a Deus e aos santos intercessores, Nossa Senhora e São Benedito, pelo refrigério espiritual nos momentos de angústia, direcionamento e inspiração.

À minha “grande família” por serem sinônimos de força e união, em especial meus pais, Benedito, Maria Piedade (quem tive que lidar com a repentina e prematura perda durante esse ciclo) e Walmira Maria, que são meus maiores exemplos, minha base. Os laços que nos unem são mais fortes que o consanguíneo.

Aos meus amores, Léo e Maju, minha família, por quem busco dá o meu melhor sempre, pela compreensão nos momentos de ausência e exaustão.

A cada professor responsável pela minha formação humana e profissional, em especial à Dra. Luiza Meller, pela confiança, condução deste trabalho e por ser exemplo que nos inspira enquanto mulhres/profissionais.

A UFPA, por todos esses anos de crescimento e evolução, pelas oportunidades.

A UEPA- campus XVIII e todos seus agentes que permitiram uma formação profissional de qualidade, ainda que no interior da Amazônia tocantina.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos por todo aprendizado durante os anos de mestrado e doutorado.

A CAPES pela concessão de bolsa no período da pós-graduação.

À família do sr Júlio Cordeiro, D. Raimunda e Liriolinda por todo suporte na coleta do fruto, objeto desta pesquisa.

Aos meus amigos por todos os momentos de apoio e descontração. Em especial, as amigas de laboratório que acompanharam a rotina exaustiva da pesquisa e todos os percalços, em especial a Danylla, Dayala, Jézica, Samiria, Yasmin.

A todos que passaram pela minha vida que contribuíram direta ou indiretamente para minha evolução pessoal e profissional.

**“Educação não transforma o mundo.
Educação muda as pessoas. Pessoas
transformam o mundo” Paulo Freire**

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi estudar o processo de extração aquosa enzimática e caracterizar as frações oleosa e aquosa obtidas a partir da polpa de tucumã-í-da-várzea (*Astrocaryum giganteum* Barb. Rodr.). Os frutos coletados em diferentes meses do ano (março, abril, maio, junho e outubro) foram caracterizados quanto às propriedades físico-químicas (lipídios totais, sólidos solúveis e cor instrumental) e bioativas (carotenoides totais, compostos fenólicos totais e atividade antioxidante), e o mês de coleta foi definido a partir da avaliação dessas propriedades. Os ensaios de extração aquosa enzimática foram realizados utilizando-se um delineamento experimental fatorial completo do tipo 2², com três repetições no ponto central e quatro pontos axiais (totalizando onze ensaios). O tipo de pré-tratamento utilizado e as condições aplicadas para os ensaios de extração aquosa enzimática (enzima, proporção soluto:solvente, temperatura e pH) foram definidos a partir de ensaios preliminares avaliando-se diferentes condições, sendo avaliado o efeito de tais variáveis no rendimento do óleo extraído. O óleo obtido nos ensaios do delineamento experimental de extração aquosa enzimática foi caracterizado quanto às suas propriedades químicas (índice de acidez, índice de peróxido, estabilidade oxidativa e carotenoides totais). As propriedades bioativas das duas frações (oleosa e aquosa) obtidas no processo de extração aquosa enzimática foram avaliadas através da determinação do teor de compostos fenólicos totais (CFT) e da atividade antioxidante. Além disso, foi realizada a caracterização do óleo de tucumã-í-da-várzea, obtido no ensaio com melhores condições para a extração, quanto à composição em ácidos graxos, índices de qualidade nutricional, índices de iodo e saponificação, e ponto de fusão. A extração aquosa enzimática aplicada à extração de óleo de tucumã-í-da-várzea possibilitou a obtenção de rendimentos equivalentes aos métodos convencionais de extração, com estabilidade oxidativa comparável à óleos tradicionais comerciais, além de altos valores de carotenoides totais, CFT e atividade antioxidante. Além disso, os extratos aquosos obtidos apresentaram excelente qualidade química, demonstrada através dos altos valores de CFT e atividade antioxidante obtidos, o que indica o grande potencial de aplicação da fase polar obtida nesses processos em diversos usos. O óleo de tucumã-í-da-várzea apresentou uma composição em ácidos graxos rica em ácidos graxos insaturados, especialmente ácido oleico e linoleico. Além disso, mostrou excelentes índices de qualidade nutricional (IA e IT), sendo considerado um óleo de alto valor nutritivo e que pode ser utilizado para fins alimentícios em substituição à óleos tradicionais, como o azeite de oliva. Com base nos resultados deste estudo, a metodologia de extração aquosa enzimática é potencialmente viável para a obtenção de óleo de tucumã-í-da-

várzea de excelente qualidade e é ambientalmente correta, pois não produz compostos orgânicos voláteis como poluentes atmosféricos, e o subproduto obtido (extrato aquoso) através da extração possui propriedades funcionais de alta qualidade e isento de produtos tóxicos.

Palavras-chave: Enzima, Extração, Óleo vegetal, Palmeiras, Amazônia.

ABSTRACT

The objective of the present work was to study the process of enzymatic aqueous extraction and to characterize the oily and aqueous fractions obtained from the pulp of tucumã-í-da-várzea (*Astrocaryum giganteum* Barb. Rodr.). The fruits collected in different months of the year (March, April, May, June and October) were characterized in terms of physicochemical properties (total lipids, soluble solids and instrumental color) and bioactive properties (total carotenoids, total phenolic compounds and antioxidant activity). , and the month of collection was defined based on the evaluation of these properties. The aqueous enzymatic extraction assays were carried out using a full 2²-factorial experimental design, with three repetitions at the central point and four axial points (totaling eleven assays). The type of pre-treatment used and the conditions applied for the aqueous enzymatic extraction tests (enzyme, solute:solvent ratio, temperature and pH) were defined from preliminary tests evaluating different conditions, and the effect of such variables was evaluated. in the yield of extracted oil. The oil obtained in the tests of the experimental design of aqueous enzymatic extraction was characterized in terms of its chemical properties (acidity index, peroxide value, oxidative stability and total carotenoids). The bioactive properties of the two fractions (oily and aqueous) obtained in the aqueous enzymatic extraction process were evaluated by determining the content of total phenolic compounds (CFT) and antioxidant activity. In addition, the characterization of tucumã-í-da-várzea oil, obtained in the test with the best conditions for extraction, was carried out in terms of fatty acid composition, nutritional quality indices, iodine and saponification indices, and melting point. . The aqueous enzymatic extraction applied to the extraction of tucumã-í-da-várzea oil made it possible to obtain yields equivalent to conventional extraction methods, with oxidative stability comparable to traditional commercial oils, in addition to high values of total carotenoids, CFT and antioxidant activity. . In addition, the aqueous extracts obtained showed excellent chemical quality, demonstrated by the high values of CFT and antioxidant activity obtained, which indicates the great potential of application of the polar phase obtained in these processes in several uses. The tucumã-í-da-várzea oil presented a fatty acid composition rich in unsaturated fatty acids, especially oleic and linoleic acid. In addition, it showed excellent nutritional quality indices (AI and TI), being considered an oil of high nutritional value and that can be used for food purposes to replace traditional oils, such as olive oil. Based on the results of this study, the aqueous enzymatic extraction methodology is potentially viable for obtaining excellent quality tucumã-í-da-várzea oil and is environmentally friendly, as it does not produce volatile organic compounds such as atmospheric pollutants, and

the by-product obtained (aqueous extract) through extraction has high quality functional properties and is free from toxic products.

Keywords: Enzyme, Extraction, Vegetable oil, Palm trees, Amazon.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Palmeira de tucumã-í-da-várzea (A); estipe com espinhos quebrados entrenós (B); frutos de tucumã-í-da-várzea (C).....	14
Figura 2 - Fluxograma do processo de extração aquosa enzimática do óleo da polpa de tucumã (<i>Astrocaryum giganteum</i> Barb. Rodr.).....	24
Figura 3 - Superfície de resposta usando o modelo proposto para: (A) Rendimento, (B) AGL, (C) Peróxido, (D) PI e (E) carotenoides totais.....	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição em ácidos graxos do óleo de tucumã (<i>Astrocaryum vulgare</i>).....	12
Tabela 2 - Composição centesimal da polpa de frutos de tucumã.....	14
Tabela 3 – Testes realizados para a seleção do tipo de pré-tratamento e sistema de incubação.....	27
Tabela 4 – Testes realizados para a seleção da enzima, proporção soluto:solvente, temperatura e pH.....	28
Tabela 5 – Matriz do planejamento experimental do processo de extração aquosa enzimática com as variáveis codificadas e reais.....	29
Tabela 6 - Caracterização físico-química e bioativa das amostras de polpa de tucumã obtida em diferentes coletas.....	35
Tabela 7 – Rendimentos obtidos nos testes para definição das condições de pré-tratamento para a extração aquosa enzimática.....	37
Tabela 8 – Testes realizados para a seleção da enzima, proporção soluto:solvente, temperatura e pH.....	39
Tabela 9 - Matriz experimental do delineamento composto central rotacional (DCCR) para o processo de extração aquosa enzimática do óleo de tucumã-í-da-várzea.....	42
Tabela 10 - Análise de variância para o rendimento.....	43
Tabela 11 - Análise de variância para o teor de AGL.....	45
Tabela 12 - Análise de variância para o índice de peróxido.....	45
Tabela 13 - Análise de variância para a estabilidade oxidativa.....	47
Tabela 14 - Análise de variância dos carotenoides totais.....	48
Tabela 15 - Composição em ácidos graxos, índices de iodo e saponificação, índices nutricionais e ponto de fusão do óleo de tucumã.....	50

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	7
2. OBJETIVOS	9
2.1. OBJETIVO GERAL.....	9
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	9
3. REVISÃO DE LITERATURA	10
3.1. TUCUMÃ.....	10
3.1.1. Aspectos gerais.....	10
3.1.2. Composição e aspectos nutricionais.....	11
3.1.3. Aplicações tecnológicas.....	12
3.2. TUCUMÃ-Í-DA-VÁRZEA.....	13
3.3. COMPOSTOS BIOATIVOS.....	15
3.3.1. Características gerais.....	15
3.3.2. Carotenoides.....	16
3.4. ÓLEOS E GORDURAS VEGETAIS.....	17
3.5. MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS.....	18
3.5.1. Extração aquosa enzimática (EAE).....	20
3.5.1.1. Celulase.....	22
3.5.1.2. Pectinase.....	22
4. MATERIAL E MÉTODOS	24
4.1. COLETA DA MATÉRIA-PRIMA.....	24
4.2. CARACTERIZAÇÃO DA POLPA DE TUCUMÃ-Í-DA-VÁRZEA.....	25
4.2.1. Cor instrumental.....	25
4.2.2. Sólidos solúveis.....	25
4.2.3. Teor de lipídeos totais.....	25
4.2.4. Carotenoides totais.....	25
4.2.5. Compostos bioativos.....	26
4.3. EXTRAÇÃO AQUOSA ENZIMÁTICA.....	26
4.3.1. Enzimas.....	26
4.3.2. Seleção das condições experimentais.....	26
4.3.2.1. Pré-tratamentos e métodos de incubação.....	26
4.3.2.2. Enzima, proporção soluto:solvente, temperatura e pH.....	27

4.3.3. Planejamento experimental	28
4.3.4. Caracterização química do extrato oleoso	30
4.3.4.1. Teor de ácidos graxos livres (AGL).....	30
4.3.4.2. Índice de peróxido.....	30
4.3.4.3. Estabilidade oxidativa.....	30
4.3.4.4. Determinação de carotenoides totais.....	31
4.3.5. Compostos bioativos	31
4.3.5.1. Compostos fenólicos totais.....	31
4.3.5.2. Determinação da capacidade antioxidante total (ABTS).....	32
4.3.6. Caracterização do óleo de tucumã obtido no melhor ensaio	32
4.3.6.1. Composição em ácidos graxos.....	32
4.3.6.2. Índices de qualidade nutricional.....	33
4.3.6.3. Índice de iodo.....	33
4.3.6.4. Índice de saponificação.....	33
4.3.6.5. Ponto de fusão.....	33
4.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	34
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
5.1. CARACTERIZAÇÃO DA POLPA DE TUCUMÃ-Í-DA-VÁRZEA.....	35
5.2. SELEÇÃO DAS CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS.....	37
5.2.1. Pré-tratamentos e métodos de incubação	37
5.2.2. Enzima, proporção soluto:solvente, temperatura e pH	38
5.3. PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL.....	39
5.3.1. Rendimento	43
5.3.2. Teor de AGL e Peróxido	44
5.3.3. Estabilidade oxidativa	46
5.3.4. Compostos bioativos	47
5.4. CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO DE TUCUMÃ OBTIDO NO MELHOR ENSAIO.....	50
6. CONCLUSÃO	53
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54

1. INTRODUÇÃO

A região amazônica possui grande diversidade de espécies frutíferas oleaginosas com características sensoriais e nutricionais únicas, que apresentam grande potencial tecnológico e econômico para sua exploração. Entre elas destaca-se a palmeira de tucumã, pertencente à família Arecaceae e gênero *Astrocaryum*, que apesar de seu grande potencial ainda é pouco explorada (SANTOS et al., 2017; SCHROTH et al., 2004; SILVA et al., 2018).

Os frutos de tucumã são drupas lisas globosas ou ovóides, cujo mesocarpo é fibroso e de coloração que varia de amarelo a laranja escuro, contendo alto teor de lipídios e pró- vitamina A (MAIA et al., 2014; YUYAMA et al., 2008). Esses frutos também são uma importante fonte de óleos vegetais de alta qualidade, ricos em ácidos graxos insaturados, especialmente ácido oleico, bem como carotenoides e apresentam propriedades nutricionais benéficas à saúde (BONY et al., 2012; RODRIGUES; DARNET; SILVA, 2010).

Duas espécies de tucumã, *Astrocaryum vulgare* e *Astrocaryum aculeatum*, se destacam como foco de várias pesquisas na literatura científica (BALDISSERA^a et al., 2017; BALDISSERA^b et al., 2017; FERREIRA et al., 2021; MATOS et al., 2019; SAGRILLO et al., 2015). Por sua vez, o *Astrocaryum giganteum* Barb. Rodr., popularmente conhecido como tucumã-í-da-várzea, ainda não foi reportado por nenhum estudo anterior. Esta espécie de tucumã possui frutos maiores e maior conteúdo em polpa, apresentando maior potencial para utilização pela indústria (KAHN, 2008).

Os óleos vegetais são tradicionalmente extraídos com a utilização de solventes orgânicos, que muitas vezes são tóxicos, inflamáveis e provenientes de fontes não renováveis, afetando negativamente o meio ambiente e a qualidade do produto (ASSANVO et al., 2016; JIAO et al., 2014; RIBEIRO et al., 2016).

Processos alternativos para a extração de óleos vegetais, que eliminem os efeitos tóxicos dos solventes orgânicos e aumentem a qualidade dos produtos obtidos tem sido foco de muitas pesquisas (CHEMAT et al., 2017; HU et al., 2020; LI et al., 2016; POLMANN et al., 2019; YUSOFF et al., 2017). A extração aquosa assistida por enzimas é um método que utiliza condições de processo amenas e água como solvente, uma alternativa ecologicamente correta que não gera resíduos tóxicos e produz óleos de forma direta através da separação física do óleo da água, sem a necessidade de etapas posteriores para a remoção do solvente por métodos de evaporação (CHEN et al., 2016; NGUYEN et al., 2020; TEIXEIRA et al.,

2013), resultando em produtos com alta qualidade nutricional e sensorial (RIBEIRO et al., 2016; YUSOFF; GORDON; NIRANJAN, 2015).

O uso de enzimas promove a ruptura celular aumentando a permeabilidade estrutural e facilitando a liberação dos compostos de interesse para o solvente de extração (AZMIR et al., 2013; SÁNCHEZ-CAMARGO et al., 2016; YUSOFF; GORDON; NIRANJAN, 2015). Essa técnica consiste no uso de enzimas que hidrolisam a parede celular dos vegetais liberando o óleo para o meio aquoso, ocorrendo também a lise do complexo molecular lipoproteína e dos lipopolissacarídeos, liberando o óleo extra que não é extraído por métodos mecânicos para o meio aquoso (DÍAZ-SUÁREZ et al., 2021; NGUYEN et al., 2020). A seleção da enzima ou de uma combinação de enzimas para auxiliar o processo de extração depende da composição da parede celular do material. Em polpas de frutas, por exemplo, a celulose, a hemicelulose e a pectina são os principais componentes (MWAURAH et al., 2020).

A extração aquosa enzimática já foi estudada para alguns frutos de palmeiras da Amazônia, como o buriti (*Mauritia flexuosa*) (SILVA; RODRIGUES; SILVA, 2019), o açai (*Euterpe oleracea*) (FERREIRA; ROGEZ; HERMAN, 2018) e o dendê (*Elaeis guineensis*) (TEIXEIRA et al., 2013), com resultados promissores. A literatura relata a caracterização do óleo da polpa de tucumã (*Astrocaryum vulgare*) extraído por prensa hidráulica (FERREIRA et al., 2008) e a comparação da qualidade do óleo extraído de duas variedades de tucumã (*Astrocaryum vulgare* e *Astrocaryum aculeatum*) utilizando CO₂ supercrítico (COSTA et al., 2016). No entanto, nenhum estudo anterior investigou a extração de óleo de tucumã-í-da-várzea (*Astrocaryum giganteum* Barb. Rodr.) e sua caracterização.

A produção de óleos através de processos de extração verdes com qualidade nutricional e tecnológica superiores aos produzidos pelos métodos tradicionais é um desafio e uma busca constante de diversos pesquisadores. Além da qualidade superior do produto final obtido, processos ecologicamente corretos contribuem para a diminuição da geração de resíduos, reduzem etapas adicionais do processo como a evaporação, necessária para a retirada de resíduos de solventes, e contribuem para a verticalização do processo e aumento de valor agregado ao produto.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Estudar o processo de extração aquosa enzimática e caracterizar as frações oleosa e aquosa obtidas a partir da polpa de tucumã-í-da-várzea (*Astrocaryum giganteum* Barb. Rodr.).

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar as propriedades físico-químicas e bioativas da polpa do fruto de tucumã-í-da-várzea coletado em diferentes meses (março, abril, maio, junho e outubro) da safra de 2018;
- Realizar diferentes pré-tratamentos na polpa do fruto e avaliar o efeito das variáveis concentração de enzima, proporção soluto:solvente, temperatura e pH no processo de extração aquosa enzimática sobre o rendimento de óleo extraído;
- Selecionar o processo que obteve maior rendimento em óleo e aplicar o planejamento de delineamento experimental fatorial completo do tipo 2^2 , com três repetições no ponto central e quatro pontos axiais (totalizando onze ensaios) para a extração aquosa enzimática de óleo de tucumã-í-da-várzea;
- Caracterização das propriedades químicas do óleo obtido nos ensaios do delineamento experimental.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. TUCUMÃ

3.1.1. Aspectos gerais

O gênero *Astrocaryum* é encontrado por toda extensão da América do Sul (Brasil, Venezuela, Guiana Francesa, Peru), composto por 24 espécies nativas na Amazônia, sendo o terceiro mais diversificado (CAVALCANTE, 1996). A Família Arecaceae (palmeiras), pertencente a este gênero possui numerosas variedades distribuídas por toda a bacia Amazônica (CLEMENT; LLERAS; VAN, 2005; GUEDES, 2006).

Tucumanzeiro é o nome utilizado para diversas espécies de palmeiras espinhosas que pertencem à família Arecacea e são palmeiras que vegetam em grandes extensões conhecidas como tucumanzais (FERREIRA et al., 2008). Essas espécies se desenvolvem em diversos ambientes como igapós, terras firmes e várzeas, e em climas quentes e úmidos, sendo o regime chuvoso o fator climático mais importante para o seu desenvolvimento (OLIVEIRA; COUTURIER; BESERRA, 2003).

Diversas espécies de tucumã e denominações populares foram relatadas por Bora et al. (2001): tucumã-y (*Astrocaryum caudescens* Barb. Rodr.), tucumã-i (*A. acaule*, Mart), tucumã (*A. aculeatum* Meyer ou *A. tucumã* Mart) e (*A. vulgare* Mart), tucumã-uaçu (*A. princeps* Barb. Rodr.), tucum-açu (*A. Chonta* Mart.), tucumã-piririca (*A. princeps* var. *aurantiacum* Barb. Rodr.), tucumã-uaçu-rana (*A. princeps* var. *flavum* Barb. Rodr.), tucumã-pururupu (*A. princeps* var. *vitellium* Barb. Rodr.), tucumã-arara (*A. princeps* var. *sulphureum* Barb. Rodr.), e tucumã-í-da-várzea (*A. giganteum* Barb. Rodr.).

Dentre as espécies mais conhecidas na região Norte do Brasil estão o tucumã-do-Pará (*Astrocaryum vulgare*) e o tucumã-do-Amazonas (*Astrocaryum aculeatum*). O tucumã-do-Pará apresenta ampla distribuição geográfica do Norte da América do Sul, com concentração no leste da Amazônia. É encontrado e comercializado principalmente no Estado do Pará. O tucumã-do-Amazonas, também conhecido popularmente como tucumã-açu, apresenta a mesma distribuição geográfica do tucumã do Pará. Porém estendendo-se até o norte da América do Sul acima do Estado do Pará, sendo encontrado e comercializado principalmente no Estado do Amazonas (DIDONET; FERRAZ, 2014; MATOS et al., 2019).

O tucumazeiro produz cerca de 2 a 3 cachos anualmente, com massa aproximada de 10 a 30 kg cada, podendo produzir de 200 a 400 frutos, o que representa aproximadamente 50 kg por ano. A frutificação tem início entre 4 e 8 anos, quando as árvores medem de 1,5 até 5 m de altura. A espécie floresce entre março e julho, e frutifica na época chuvosa, ou seja, de janeiro a abril. Contudo, se bem manejada, a palmeira pode dar frutos o ano inteiro (LIRA et al., 2013; MENDONÇA et al., 2019). O tucumazeiro apresenta peculiaridades como perfilhamento abundante, rusticidade e perenidade, podendo ser plantado em vários tipos de solos, até nos solos arenosos (OLIVEIRA, 1998).

3.1.2. Composição e aspectos nutricionais

Os frutos de tucumã são drupas lisas, com epicarpo e mesocarpo que podem variar muito em cor (amarelado a laranja escuro e vermelho ou esbranquiçado), forma (oval, esférica), espessura do mesocarpo (2,8 a 10 mm), endocarpo e tipo de semente. A consistência da polpa é mucilagínosa, oleosa e doce ao paladar com um sabor característico (MAIA et al., 2014). A polpa do tucumã apresenta elevado conteúdo lipídico, sendo este o principal macronutriente presente no seu mesocarpo, característica que contribui consideravelmente para o seu elevado valor energético. Silva et al. (2018) e Yuyama et al. (2008), obtiveram teores de lipídios de 35,42 e 32,29 %, respectivamente, ao caracterizarem a polpa *in natura* de *Astrocaryum aculeatum*. Enquanto Ferreira et al. (2008), obtiveram teor de lipídios mais elevado (40,49 %) ao avaliarem a composição físico-química do fruto de *Astrocaryum vulgare*.

A polpa do fruto de tucumã é considerada uma excelente fonte de carotenoides com potencial pró-vitamina A, a partir da qual pode ser extraído um óleo de alto valor para a indústria de alimentos (RODRIGUEZ-AMAYA; AMAYA-FARFAN; KIMURA, 2007). Rosso e Mercadante (2007) identificaram 21 diferentes tipos de carotenoides presentes na polpa de tucumã (*Astrocaryum aculeatum*). Sendo o *trans*- β -caroteno (47,36 $\mu\text{g/g}$), precursor da vitamina A, o carotenoide majoritário e que representa 75 % do conteúdo total de carotenoides presentes no tucumã. O valor de atividade de vitamina A presente na polpa de tucumã, expressa como Equivalente de Retinol (RE), é de 850 RE/100 g, superior ao encontrado em outras frutas, como o mamão (19-74 RE/100 g), acerola (148-283 RE/100 g) e vegetais como cenouras (308-625 RE/100 g) e brócolis (131-194 RE/100 g) (ROSSO;

MERCADANTE, 2007). É também uma fonte importante de vitamina B2 (riboflavina) e apresenta compostos bioativos como catequina e quercetina (GONÇALVES et al., 2010).

O tucumã é um fruto constituído por duas principais frações oleaginosas. Enquanto a polpa fornece um óleo de cor laranja e rico em ácidos graxos poliinsaturados, a amêndoa produz uma gordura láurica. O óleo de polpa de tucumã contém cerca de 30 % de ácidos graxos saturados e 70 % de ácidos graxos insaturados, sendo majoritários em sua composição os ácidos oleico (C 18:1) e palmítico (C 16:0), como mostra a Tabela 1. Além de ser considerado uma importante fonte de carotenoides, o óleo de polpa de tucumã apresenta um perfil de compostos voláteis que favorece seu uso nas indústrias cosmética e alimentícia (BORA et al., 2001; BONY et al., 2012).

Tabela 1 - Composição em ácidos graxos do óleo de tucumã (*Astrocaryum vulgare*).

Ácidos graxos	Bony et al. (2012)	Ferreira et al. (2008)	Santos et al. (2013)
Ácido palmítico (C 16:0)	25 ± 0,5	22,9 ± 1,3	23,4 ± 0,2
Ácido esteárico (C 18:0)	2,4 ± 0,2	2,95 ± 0,05	2,6 ± 0,1
Ácido oleico (C 18:1)	63,5 ± 0,9	67,62 ± 1,22	64,7 ± 1,0
Ácido linoleico (C 18:2)	1,3 ± 0,1	1,15 ± 0,01	4,1 ± 0,2
Ácido α-linolênico (C 18:3)	3,5 ± 0,3	-	2,0 ± 0,8

3.1.3. Aplicações tecnológicas

Diversos estudos já demonstraram as potencialidades de aplicações tecnológicas do tucumã das espécies *Astrocaryum vulgare* e *Astrocaryum aculeatum*. No que se refere ao tucumã da espécie *Astrocaryum vulgare*, Matos et al. (2019) evidenciaram o elevado potencial de utilização de suas cascas como fonte de carotenoides pelas indústrias alimentícia, cosmética e farmacêutica, para a obtenção de corantes e/ou ingredientes bioativos. Baldissera^b et al. (2017) demonstraram que o óleo deste fruto pode ser considerado como uma alternativa natural importante para o tratamento de hiperglicemia por melhorar os níveis de insulina. Bony et al. (2012) realizaram a caracterização química do óleo da polpa de tucumã e avaliaram suas propriedades anti-inflamatórias *in vivo*, e observaram que sua administração pode neutralizar com eficiência uma resposta inflamatória aguda e crônica, e, portanto, seu consumo pode ter potenciais efeitos preventivos em várias doenças inflamatórias. Estes autores atribuíram as propriedades anti-inflamatórias em parte à presença de carotenoides,

fitosteróis e tocoferóis identificados no óleo da polpa de tucumã, bem como ao alto conteúdo de ácido oleico.

Dentre os diversos estudos já realizados sobre os frutos da espécie *Astrocaryum aculeatum*, pode-se citar a pesquisa desenvolvida por Lira et al. (2013) e Mendonça et al. (2019), que avaliaram a produção de biodiesel a partir de resíduos de tucumã (*Astrocaryum aculeatum*) e obtiveram resultados satisfatórios, sendo uma alternativa potencial na substituição de combustíveis fósseis. Bichara (2007) avaliou a utilização de suplementos à base de tucumã, a partir de testes *in vivo* com ratos e observou a ação protetora do β -caroteno contra a oxidação lipídica. Sagrillo et al. (2015) quantificaram as moléculas bioativas e o efeito protetor *in vitro* de extratos etanólicos isolados da casca e da polpa de tucumã, e verificaram a redução dos efeitos citotóxicos do peróxido de hidrogênio em linfócitos humanos, o que indica o potencial de aplicação do tucumã em produtos farmacológicos. Cabral et al. (2020) investigaram as propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias do extrato de tucumã (polpa e casca) contra a inflamação induzida por fitohemaglutinina em culturas de células. E observaram que os extratos inibiram a proliferação de macrófagos, interromperam o ciclo celular na fase G0/G1, aumentaram as defesas antioxidantes, reduziram o estresse oxidativo e modularam genes relacionados à resposta inflamatória. Efeitos benéficos também foram observados em estudos *in vivo*, que colocam o extrato como um coadjuvante terapêutico adequado na prevenção ou tratamento de doenças inflamatórias.

3.2. TUCUMÃ-Í-DA-VÁRZEA

A espécie *Astrocaryum giganteum* Barb. Rodr. (Figura 1), popularmente conhecida como tucumã-í-da-várzea, é uma palmeira monocaule, com até 20 m de altura e estipe (caule) com espinhos rompidos nos entrenós, medindo até 7 m de comprimento, agrupadas e dispostas em diferentes planos, com coloração branca na superfície abaxial (inferior). Inflorescência interfoliar, ereta monóica, frutos ovóides a subgloso com epicarpo (casca) liso, mesocarpo (polpa) carnoso e fibroso, endocarpo (tegumento) duro-lenhoso, com coloração amarelada na maturidade, medindo 2,58 x 2,15 cm. Cada fruto possui uma semente com endosperma homogêneo. Plântulas com folhas bífidias. Cada planta produz em médiadois cachos por safra, sendo encontrados aproximadamente 356 frutos por planta (MIRANDA; RABELO, 2008).

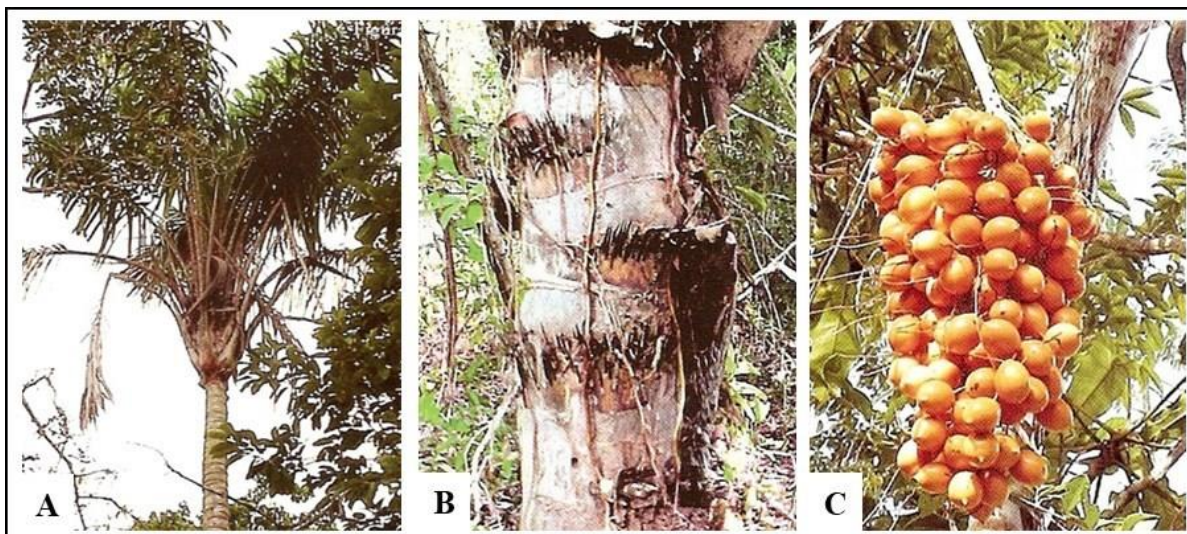


Figura 1 - Palmeira de tucumã-í-da-várzea (A); estipe com espinhos quebrados entrenós (B); frutos de tucumã-í-da-várzea (C).

Fonte: Miranda e Rabelo (2008).

O tucumã-í-da-várzea se diferencia das demais espécies por apresentar frutos maiores e ainda não ter sido objeto de estudo de nenhuma pesquisa publicada na literatura, o que reforça a necessidade de pesquisas relacionadas a esse valioso fruto (KAHN, 2008). A composição centesimal da polpa de tucumã-í-da-várzea, em comparação às duas espécies de tucumã (*Astrocaryum vulgare* Mart. e *Astrocaryum aculeatum* Meyer), que se destacam das demais por serem mais conhecidas e seus frutos já terem sido objeto de estudo de diversas pesquisas publicadas na literatura, são apresentadas na Tabela 2. É possível verificar que os dados para espécie em estudo neste trabalho condizem com os reportados na literatura para espécies diferentes, o que reforça a necessidade de mais estudos de aplicações e viabilidades tecnológicas.

Tabela 2 - Composição centesimal da polpa de frutos de tucumã.

Composição (g/100 g)	<i>A. giganteum</i>	<i>A. vulgare</i>	<i>A. aculeatum</i>
	Santos et al. (2017)	Bichara (2007)	Yuyama et al. (2008)
Umidade	46,44 ± 0,78	53,26 ± 0,52	48,46 ± 0,48
Lipídios	32,16 ± 1,29	40,40 ± 0,36	32,29 ± 0,33
Proteínas	6,68 ± 0,18	4,42 ± 0,03	3,51 ± 0,00
Fibras	8,15 ± 0,05	15,76 ± 0,30	-
Cinzas	1,66 ± 0,13	2,34 ± 0,06	1,26 ± 0,09

3.3. COMPOSTOS BIOATIVOS

3.3.1. Características gerais

Os antioxidantes podem ser definidos como qualquer substância que, presente em baixas concentrações em relação ao substrato oxidável, retardam ou inibem significativamente sua oxidação, diminuindo assim, a velocidade de reação e conseqüentemente prolongam a sua estabilidade oxidativa (MOURE et al., 2001). Esses compostos podem ser de origem endógena ou exógena. Neste último caso, são obtidos pela dieta, e são conhecidos como antioxidantes naturais, sendo que seu consumo aumenta a resistência aos danos provocados pela oxidação, o que causa um impacto positivo para a saúde humana (PRADO, 2009). Além disso, esses compostos podem ajudar na proteção do organismo contra os danos causados pelas espécies reativas do oxigênio (ERO's) e doenças degenerativas como câncer, doenças cardiovasculares, diabetes *mellitus*, entre outras (SHAHIDI; JANITHA; WANASUNDARA, 1996).

As espécies reativas de oxigênio são moléculas altamente reativas e o corpo controla sua degradação através de dois sistemas antioxidantes integrados: um sistema enzimático endógeno e controle exógeno através da entrada de moléculas antioxidantes não enzimáticas derivadas da dieta ou produzidas pelo organismo (BÖHM; EDGE; TRUSCOTT, 2012).

A forma de atuação desses compostos, de modo a proporcionar tais benefícios ocorre por vários mecanismos nos organismos vivos, tais como complexação de íons metálicos, captura de radicais livres, inibição de enzimas responsáveis pela geração de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio e modulação de vias sinalizadoras celulares (PHANIENDRA; JESTADI; PERIYASAMY, 2015).

Em humanos, o desequilíbrio entre espécies oxidantes e antioxidantes pode provocar uma série de desordens celulares, tais como peroxidação lipídica, danos proteico-enzimáticos e alterações no DNA, as quais podem estar associadas a inúmeros processos deletérios, como o câncer, aterosclerose, diabetes mellitus, além de envelhecimento precoce (BIANCO; SANTOS, 2010).

Como os compostos antioxidantes permitem ao organismo combater o excesso de radicais livres, vários estudos estão voltados para pesquisa de frutos, que possuem essas propriedades, bem como o desenvolvimento de novos produtos que também proporcionem essa ação ao organismo humano (AYYANAR; SUBAHS-BABU, 2012).

Os compostos antioxidantes podem ser classificados em sintéticos ou naturais. Os antioxidantes sintéticos são comumente utilizados na indústria de alimentos para aumentar a vida útil dos alimentos. São exemplos de antioxidantes sintéticos: o butilhidroxitolueno (BHT), o butilhidroxianisol (BHA), o propilgalato (PG) e o terciobutilhidroxinona (TBHQ) (BARREIROS; DAVID, 2006). No entanto, o consumo dos antioxidantes sintéticos tem sido associado a malefícios à saúde (GUNDUC; EL, 2003). Isso tem instigado a indústria de alimentos a reduzir seu uso, além de buscar alternativas, como os antioxidantes naturais. Existem fórmulas, já comercializadas, para adição em alimentos elaboradas a partir de substratos com alto potencial antioxidante, como os extratos de alecrim e orégano (TRINDADE, 2007).

Entre os mais importantes antioxidantes naturais estão os compostos fenólicos (flavonoides, ácidos fenólicos e taninos), compostos nitrogenados (alcaloides, aminoácidos, peptídeos, aminas e derivados da clorofila), carotenoides, tocoferóis e ácido ascórbico (AMAROWICZ et al., 2010).

3.3.2. Carotenoides

Os carotenoides são pigmentos naturais metabolizados por plantas, algas e bactérias fotossintéticas, responsáveis pelas cores amarelas, laranja e vermelhas em várias frutas e vegetais (NAMITHA; NEGI, 2010). Os carotenoides podem ser classificados em dois grupos com base em grupos funcionais: xantofilas, contendo oxigênio como grupo funcional, incluindo luteína e zeaxantina; e carotenos, que contém apenas uma cadeia hidrocarbonada- mãe sem qualquer grupo funcional, como o α -caroteno, o β -caroteno e o licopeno. A adição de grupos polares (epoxi, hidroxilo e ceto) altera a polaridade dos carotenoides e afeta as funções biológicas (BRITTON, 2008).

Frutas e vegetais são as principais fontes de carotenoides e desempenham um papel importante na dieta devido à atividade provitamina A (HASKELL, 2013). Além disso, os carotenoides também são importantes para a atividade antioxidante, comunicação intercelular e atividade do sistema imunológico (SKIBSTED, 2012; STEPHENSEN, 2013). Estudos epidemiológicos demonstraram que o consumo de dietas ricas em carotenoides está associado a menor incidência de câncer, doenças cardiovasculares, degeneração macular relacionada à idade e formação de cataratas (MEYERS et al., 2014, SHARONI et al., 2012).

A deficiência de carotenoides resulta em sinais clínicos de conjunção e aberrações da córnea, incluindo xerofthalmia, cegueira noturna, queratomalácia, ulceração da córnea, cicatrização e cegueira irreversível resultante (SOMMER, 2008). Além do acima exposto, a deficiência de carotenoides de provitamina A leva à incapacidade de visão em humanos e aumento da mortalidade devido a uma imunidade inata enfraquecida e imunidade adaptativa (STEPHENSEN, 2001).

A característica de maior destaque nessas moléculas é um sistema extenso de ligações duplas conjugadas, responsável por suas propriedades e funções tão especiais e, também pela absorção da luz que, conseqüentemente, inativa o oxigênio singlet e radicais livres. A presença destas ligações conjugadas possibilita uma variedade de isômeros geométricos (*cis/trans*), sendo a forma *trans* a naturalmente encontrada na maioria dos carotenoides. Este sistema é o cromóforo que confere a esses pigmentos as suas atraentes cores (CARDOSO, 1996).

Cerca de mil carotenoides naturais já foram identificados; porém, aproximadamente 10 % podem ser encontrados na dieta humana e cerca de 20 % deles no plasma e tecidos de mamíferos. Os principais carotenoides são beta (β -) e alfa (α -) caroteno, licopeno, luteína e beta-criptoxantina que contribuem com 90 % dos carotenoides circulantes em humanos, desempenhando atividade de pró-vitamina A, importante atividade nutricional dos carotenoides no organismo humano (MORAES, 2006).

Sagrillo et al. (2015) afirmam que as propriedades biológicas de várias frutas ricas em carotenoides não são bem caracterizadas, como é o caso do tucumã. Ferreira et al. (2008) reportam a concentração de 11.616,58 $\mu\text{g}/100\text{g}$ de β - caroteno no fruto de tucumã (*Astrocaryum aculeatum*).

3.4. ÓLEOS E GORDURAS VEGETAIS

Óleos e gorduras são substâncias insolúveis em água formadas predominantemente por produtos da condensação de ésteres de ácidos graxos e glicerol, com ainda, alguns componentes não-glicerídeos em menores quantidades, como fosfolipídios, esteróis livres ou ésteres de esterol, tocoferóis, tocotrienóis, alcoois, hidrocarbonetos e vitaminas lipossolúveis (MORETTO; FETT, 1998; O'BRIEN, 2003; GUNSTONE, 2004).

Os óleos e gorduras representam as maiores fontes de energia dentre os três componentes básicos dos alimentos (carboidratos, proteínas e lipídios) e a maioria contém

ácidos graxos essenciais para a saúde, que não são produzidos pelo corpo humano (O'BRIEN, 2003). São, dessa forma, usados quase universalmente como formas de armazenamento de energia nos organismos vivos. Em adição às propriedades nutricionais, os óleos e gorduras conferem consistência e características de fusão específicas aos produtos que os contém, atuam como meio de transferência de calor durante o processo de fritura e como carreadores de vitaminas lipossolúveis e aroma (GUSNTONE, 2002; PEREIRA et al., 2018). Além disso, os lipídios afetam a estrutura, a estabilidade, o sabor, o aroma, a qualidade de estocagem e as características sensoriais e visuais dos alimentos (O'BRIEN, 2003).

As unidades fundamentais dos lipídios são os ácidos graxos, que podem ocorrer naturalmente como substâncias livres ou esterificadas, entretanto, a grande maioria pode ser encontrada na forma esterificada com o glicerol (1,2,3-triidroxipropano), formando os triglicerídeos ou triacilgliceróis (GUNSTONE, 2004).

Segundo Moretto e Fett (1998), os óleos brutos contém cerca de 95 % de triacilgliceróis. Depois do refino, este percentual aumenta para 97-99 %, dependendo do nível de matéria insolúvel (insaponificável) restante. Acompanhando os triacilgliceróis, em menor quantidade, têm-se os diacilgliceróis, monoacilgliceróis e os ácidos graxos livres.

As características físicas, químicas e nutricionais dos óleos dependem, essencialmente, da natureza, número de átomos de carbono e posição dos grupos acila presentes nas moléculas dos triglicerídeos, além da constituição pelos componentes não-glicerídicos (MORETTO; FETT, 1998; O'BRIEN, 2003).

Segundo Guedes (2006), os componentes em maior concentração no óleo de tucumã, são os ácidos graxos insaturados, principalmente o ácido oleico, entretanto, pode-se destacar a presença considerável de ácidos graxos saturados, como o ácido palmítico, sendo o segundo ácido graxo em maior concentração apresentado nesta composição dos frutos. No que se refere à qualidade dos ácidos graxos, Bora et al. (2001) relatam que o óleo da polpa de tucumã possui um grande percentual de ácidos graxos insaturados, principalmente os ácidos linoleico (ω -6) e oleico (ω -9), revelando sua considerável potencialidade nutricional e funcional.

3.5. MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS

Os extratos naturais desempenham um papel importante como aditivos ou insumos nas indústrias cosmética, farmacêutica, alimentícia, têxtil e de perfumaria. A maioria dos extratos naturais possuem mais do que uma ou duas funções, podendo ser utilizados como corantes

naturais, nutracêuticos, alimentos funcionais, agentes conservantes, aromatizadores e fragrâncias, medicamentos, suplementos vitamínicos, padrões químicos, perfumes, entre outros (VILAS-BOAS; PINTADO; OLIVEIRA, 2021).

Os processos de extração consistem em operações unitárias que visam a separação de determinados compostos a partir de uma matriz através de processos físicos, químicos e biológicos. De acordo com o estado de agregação da matriz, existem três tipos básicos de processos extrativos: extração sólido-líquido, extração líquido-líquido e extração gás-líquido (TZIA; LIADAKIS, 2003; ZENG et al., 2022).

Vários métodos de extração podem ser aplicados para a obtenção de compostos de interesse. Com relação à escolha do processo mais adequado, vários fatores devem ser considerados, como custo, rendimento, produtividade e seletividade. Os três primeiros fatores possuem implicações econômicas importantes e determinam a viabilidade da aplicação industrial do processo. Já a seletividade, está intimamente relacionada com a qualidade do produto obtido (PANZELLA et al., 2020).

O uso de compostos bioativos em diferentes setores comerciais, como indústrias farmacêuticas, alimentícias e químicas, significa a necessidade da aplicação de um método mais apropriado e padrão para extrair esses componentes ativos de materiais vegetais. Juntamente com os métodos convencionais, vários novos métodos foram estabelecidos, mas até agora nenhum único método é considerado padrão para a extração de compostos bioativos de plantas. A eficiência dos métodos de extração convencionais e não convencionais depende principalmente dos parâmetros críticos de entrada; compreendendo a natureza da matriz da planta; química de compostos bioativos e conhecimentos científicos (AZMIR et al., 2013).

Os compostos bioativos de materiais vegetais podem ser extraídos por várias técnicas clássicas de extração. A maioria dessas técnicas baseia-se no poder de extração de diferentes solventes em uso e na aplicação de calor e/ou mistura. Para obtenção de compostos bioativos de plantas, as técnicas clássicas existentes são: extração por Soxhlet, maceração e hidrodestilação (VANKAR, 2004).

Os principais desafios da extração convencional são o tempo de extração mais longo, o requisito do solvente caro e de alta pureza, a evaporação da grande quantidade de solvente, a baixa seletividade de extração e a decomposição térmica de compostos termolábeis (CASTRO; GARCIA-AYUSO, 1998). Além disso, a maioria destes métodos tem algumas limitações, como o uso de solventes tóxicos (riscos relacionados à saúde), altas temperaturas e

tempos de extração prolongados (degradação de compostos de interesse) (GARCIA-CASTELLO et al., 2015).

Para superar as limitações apresentadas pelos métodos de extração convencionais e devido a crescente necessidade de alternativas verdes e sustentáveis para a extração de compostos bioativos, as tecnologias verdes têm sido o foco de diversas pesquisas. Dentre elas destacam-se a extração assistida por micro-ondas, extração assistida por ultrassom, extração por fluido supercrítico e extração assistida por enzimas (AZMIR et al., 2013). Recentemente, o uso de solventes eutéticos profundos naturais (NADES) para a recuperação de compostos bioativos recebeu grande atenção como alternativa à extração convencional que utiliza solventes orgânicos que podem contribuir para a toxicidade, apresentando alta volatilidade e não renovabilidade (COMAN et al., 2020; VILAS-BOAS; PINTADO; OLIVEIRA, 2021).

3.5.1. Extração aquosa enzimática (EAE)

A EAE é reconhecida como tecnologia *eco-friendly* para a extração de compostos e óleos bioativos porque utiliza água como solvente em vez de produtos químicos orgânicos (PURI; SHARMA; BARROW, 2012). Ao discorrer sobre extração assistida pelo uso de enzimas, sejam de preparações enzimáticas comerciais ou naturais, Laroze, Soto e Zúñiga (2010) ressaltam que a extração de base de enzimas de compostos bioativos de plantas é uma alternativa potencial para os métodos convencionais de extração à base de solventes.

Sabe-se que a disponibilidade dos compostos é favorecida pela quebra da parede celular vegetal provocada pela ação enzimática. Preparações enzimáticas comerciais têm sido utilizadas cada vez mais pelas indústrias de alimentos, uma vez que, segundo a RDC nº 53, podem ser aplicadas o quanto forem necessárias (BRASIL, 2014).

O resultado da associação de diferentes tipos de polímeros que compõem a matéria vegetal (celulose, hemicelulose e lignina), o grau de cristalinidade e o empacotamento provocado pela estrutura complexa da lignina, obtém-se um material de estrutura rígida e muito resistente ao ataque enzimático, dessa forma a degradação da celulose na natureza ocorre lentamente a partir das extremidades susceptíveis (SIQUEIRA; FERREIRA FILHO, 2010). Logo, as enzimas que são proteínas com função específica de acelerar reações químicas por meio de catálise, podem ser utilizadas para facilitar o processo de degradação da parede celular vegetal.

Como a parede celular vegetal é composta principalmente por celulose, hemicelulose e lignina, é necessário que as multienzimas possuam diferentes atividades como; pectinases, celulases, xilanases e proteases para ocasionar a ruptura da parede celular (SAHA et al., 2006).

Vários fatores, incluindo composição e concentração de enzimas, tamanho de partícula de materiais vegetais, relação de sólidos para água e tempo de hidrólise, são reconhecidos como fatores-chave para a extração enzimática (NIRANJAN; HANMOUNGJAI; PYLE, 2002). Dominguez, Ntiiez e Lema (1995) relatam que a umidade dos materiais vegetais também é um fator importante para a hidrólise enzimática.

Bhattacharjee et al. (2006) descreveram esse método de extração como uma alternativa ideal para a extração de componentes bioativos de oleaginosas, devido às suas propriedades não tóxicas e não inflamáveis. Verificou-se que o óleo extraído por métodos assistidos por enzimas contém maior quantidade de ácidos graxos livres e teor de fósforo do que o óleo extraído com hexano tradicional (DOMINGUEZ; NTIIIEZ; LEMA, 1995).

Na extração assistida por enzimas, afirma-se que complexos enzimáticos são comumente utilizados nas indústrias de vinho, com intuito de melhorar a extração de cor e de taninos (NOVOZYMES, 2005). Santamaria et al. (2000) aplicaram enzimas no processo de extração de capsaicinoides e carotenoides de pimentas (*Capsicum annum* L.) utilizando etanol como solvente.

A extração de antioxidante fenólico de resíduos sólidos de framboesa foi aumentada pela aplicação de enzima na extração hidro-alcoólica em comparação com o controle não enzimático (LAROZE; SOTO; ZÚÑIGA, 2010). Gómez-García, Martínez-Ávila e Aguilar (2012) extraíram compostos fenólicos de resíduos de uva usando diferentes tipos de enzimas, Celluclast® 1.5 L, Pectinex® Ultra e Novoferm®. A enzima Novoferm® teve o efeito mais forte na liberação fenólica de resíduos de uva, seguido por Pectinex® Ultra e Celluclast® 1.5 L. Os autores ilustram a tecnologia enzimática como uma alternativa para extrair compostos bioativos de subprodutos agroindustriais.

Em relação aos fatores que interferem no rendimento da extração via enzimática, Niranjana, Hanmoungjai e Pyle (2002) listam composição e concentração enzimática, tamanho dos materiais vegetais (superfície de contato), proporção sólido/volume de água e tempo de hidrólise, reconhecidos como fatores-chave para a extração.

3.5.1.1. Celulase

A celulase é a enzima que desempenha um papel fundamental na hidrólise da ligação β -1,4-glicosídica da celulose, um componente dominante da parede celular das plantas. A produção de celulases é uma importante área de pesquisa. No mercado industrial, ocupa a terceira posição no ranking mundial, representando 20 % do volume total de 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 (KARMAKAR; RAY, 2010; VASCONCELOS; CAVACO-PAULO, 2006).

A celulase é um complexo enzimático, formado por três componentes que atuam sinergicamente e são classificadas como indutoras, uma vez que sua produção é induzida pela presença de celulose no meio, como única fonte de carbono (OGEDA; PETRI, 2010; TRIVEDI et al., 2010). São compostos de endoglucanases (EnG), exoglucanases (ExG) e β - glicosidases, que hidrolisam a matriz celulósica liberando principalmente glicose (MAEDA et al., 2013).

As endoglucanases ou endo- β -1,4-glucanase ou carboximetilcelulase (EC 3.2.1.4) é a enzima que dá início à hidrólise, clivam o polímero de celulose nas regiões internas da estrutura amorfa, liberando oligossacarídeos de diversos graus de polimerização, criando novos terminais redutores e não redutores da cadeia. As enzimas do complexo celulolítico atuam de forma conjunta, apresentando um rendimento melhor do que o somatório das enzimas individuais, ou seja, quando atuam isoladamente umas das outras (CASTRO; PEREIRA JR, 2010; NARRA et al., 2014).

3.5.1.2. Pectinase

As pectinases formam um grupo de enzimas que degradam substâncias pécicas, hidrolisando ligações glicosídicas ao longo da cadeia carbônica. Podem ser despolimerizantes ou desesterificantes e são produzidas por plantas, fungos filamentosos, bactérias e leveduras. Algumas das aplicações destas enzimas nas indústrias de alimentos incluem amadurecimento de frutas, clarificação e redução de viscosidade em sucos de frutas, extração de polpa de

tomate, fermentação de chá e chocolate, tratamento de resíduos vegetais, enriquecimento proteico de alimentos infantis e extração de óleos (AZZAZ et al., 2012).

Existem basicamente três tipos de pectinases, pectina esterase (desesterificante ou desmetoxilante) remove os grupos metil éster; as despolimerizantes (incluem as enzimas hidrolíticas e as liases) catalisam a clivagem das ligações glicosídicas das substâncias pécticas e as protopectinases que solubilizam protopectina para formar pectina (JAYANI; SAXENA; GUPTA, 2005; YADAV et al., 2013).

fazer a excicata

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. COLETA DA MATÉRIA-PRIMA

Os cachos contendo os frutos de tucumã-í-da-várzea (*Astrocaryum giganteum* Barb. Rodr.) foram coletados em uma área rural localizada na cidade de Cametá (Pará, Brasil) (2°15'15" S, 49°30'44" W), em diferentes meses do ano de 2018 (março, abril, maio, junho e outubro). Os frutos foram retirados do cacho, lavados em água corrente e higienizados com solução de hipoclorito de sódio (200 ppm) por 10 min. Em seguida, os frutos foram despulpados com auxílio de facas de aço inoxidável, onde a polpa foi separada das cascas e das sementes. Uma amostra representativa da polpa *in natura* de cada coleta foi utilizada para a caracterização inicial dos frutos. As partes do fruto de tucumã obtidas após o processo de despulpamento foram acondicionadas em embalagens de polietileno de 500 g e armazenadas em freezer a -18 °C até o momento da realização dos ensaios, aproximadamente 15 dias. Todas as etapas realizadas para o estudo da extração aquosa enzimática do óleo da polpa de tucumã são resumidas através do fluxograma apresentado na Figura 2.

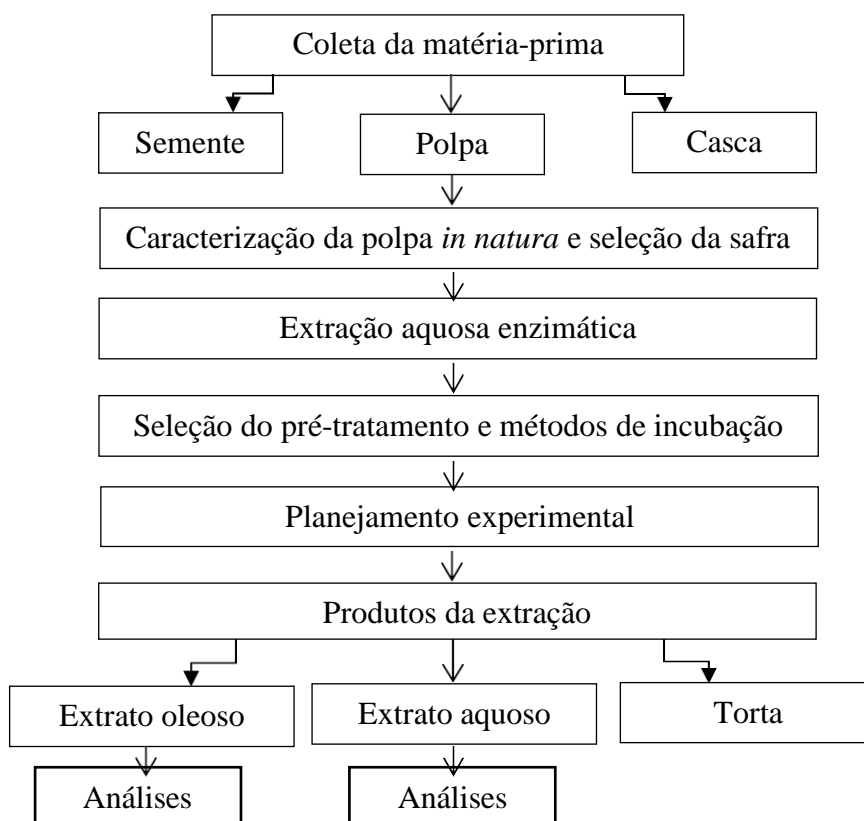


Figura 2 - Fluxograma do processo de extração aquosa enzimática do óleo da polpa de tucumã (*Astrocaryum giganteum* Barb. Rodr.).

4.2. CARACTERIZAÇÃO DA POLPA DE TUCUMÃ-Í-DA-VÁRZEA

As amostras das polpas de tucumã, obtidas em cada mês de coleta, foram caracterizadas quanto ao teor de lipídios totais, sólidos solúveis (°Brix), cor instrumental, e compostos bioativos.

4.2.1. Cor instrumental

A cor instrumental foi determinada utilizando um colorímetro portátil (CR-400, Konica-Minolta, Japão), configurado com os seguintes parâmetros: iluminação difusa, especular incluída, fonte de iluminação D65, operando no Sistema CIELAB. Foram obtidos os valores da coordenada b^* (componente amarelo-azul).

4.2.2. Sólidos solúveis

O teor de sólidos solúveis (°Brix) foi determinado pela leitura em refratômetro digital (Q767B0, Quimis, Brasil), de acordo com o método nº 932.12 (AOAC, 1997)

4.2.3. Teor de lipídeos totais

O teor de lipídios totais determinado por extração em Soxhlet usando éter de petróleo como solvente, de acordo com o método nº 920.39 (AOAC, 1997).

4.2.4. Carotenoides totais

A determinação de carotenoides totais foi realizada segundo o método descrito por Rodriguez-Amaya (2001). A quantificação espectrofotométrica (NI 1600UV, Nova Instruments, Brasil) foi realizada a comprimento de onda de 450 nm em éter de petróleo. O teor total de carotenoides foi calculado usando o coeficiente de extinção do β -caroteno em éter de petróleo ($E_{1\%}^{1\text{cm}} = 2592$) (DAVIES, 1976) e expresso como μg de β -caroteno por g de amostra.

4.2.5. Compostos bioativos

O teor de carotenoides totais foi determinado de acordo com o procedimento descrito por Rodriguez-Amaya (2001); teor de compostos fenólicos, de acordo com a metodologia proposta por Singleton e Rossi (1965), e capacidade antioxidante pelo método ABTS proposto por Re et al. (1999).

4.3. EXTRAÇÃO AQUOSA ENZIMÁTICA

4.3.1. Enzimas

As enzimas Celluclast® 1.5 L (celulase de *Trichoderma reesei*, 700 U/g de atividade EGU, pH ótimo 4,5–6,0, temperatura ótima 50 - 60 °C) e Pectinex® Ultra SP-L (pectinase de *Aspergillus aculeatus*, 3800 U/g de atividade PGNU, pH ótimo 4,5, temperatura ótima 50 °C) foram gentilmente doadas pela Novozymes (Paraná, Brasil).

4.3.2. Seleção das condições experimentais

4.3.2.1. Pré-tratamentos e métodos de incubação

As amostras da polpa de tucumã obtidas no melhor mês de coleta, selecionadas através da caracterização físico-química e bioativa, onde, priorizou-se o rendimento em óleo para a seleção do mês. As amostras foram submetidas a testes para a definição do melhor tipo de pré-tratamento e sistema de incubação a serem utilizados no processo de extração aquosa enzimática do óleo da polpa de tucumã-í-da-várzea. Os pré-tratamentos realizados foram: autoclave a 121 °C por 1 min, secagem em estufa de circulação de ar a 60°C por 7 h, e a combinação destes métodos. Os sistemas de incubação utilizados foram: banho termostático (com e sem agitação); agitação utilizando agitador orbital a 120 rpm, em temperatura ambiente, por 1 h em cada meio; e agitação utilizando agitador orbital a 120 rpm por 2 h. Os resultados obtidos para o rendimento de óleo (%) foi utilizado para definir o tipo de pré-tratamento e o método de incubação mais adequado. Para a realização dos testes, as extrações foram realizadas na temperatura de 60 °C, utilizando a enzima Celluclast® 1.5 L na concentração de 1 % e 10 g de amostra. As condições utilizadas em cada teste são apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3 – Testes realizados para a seleção do tipo de pré-tratamento e sistema de incubação.

Teste	Pré-tratamento	Sistema de incubação
1		Banho termostático
2	<i>In natura</i>	Banho termostático + agitação
3		Agitador orbital
4		Banho termostático
5	Autoclave	Banho termostático + agitação
6		Agitador orbital
7		Banho termostático
8	Secagem	Banho termostático + agitação
9		Agitador orbital
10		Banho termostático
11	Autoclave/secagem	Banho termostático + agitação
12		Agitador orbital

4.3.2.2. Enzima, proporção soluto:solvente, temperatura e pH

Foram realizados testes para a seleção da enzima, proporção soluto:solvente, temperatura e pH. A Tabela 4 apresenta as condições utilizadas em cada ensaio realizado. Para as extrações, 10 g de polpa de tucumã e solução de ácido acético e acetato de sódio nas proporções de 1:5 e 1:10 (m/v), em pH 4, 5 e 6, foram adicionados em frascos Erlenmeyer e homogeneizadas a 18000 rpm por 1 min utilizando um agitador Turratex (TE-102, Tecnal, Brasil). As enzimas Celluclast® 1.5 L e Pectinex® Ultra SP-L foram utilizadas isoladamente e como blend (celulase:pectinase; 1:1) na concentração de 1 % em relação ao peso de amostra. A extração foi realizada em agitador orbital (MA832, Marconi, Brasil) a $2.897 \times g$ nas temperaturas de 40, 50 e 60 °C, por 2 e 4 h. Após a incubação, as enzimas foram inativadas a 75 °C por 5 min em banho termostático (MA127, Marconi, Brasil) e a mistura de reação foi centrifugada (Multifuge X1R, Termo Scientific, EUA) a $10000 \times g$ por 20 min para a separação das fases aquosa e oleosa. A fase superior (oleosa) foi coletada e pesada. A partir destes testes foram selecionadas as melhores condições para serem utilizadas no planejamento experimental para a extração enzimática de óleo da polpa de tucumã.

Tabela 4 – Testes realizados para a seleção da enzima, proporção soluto:solvente, temperatura e pH.

Teste	Enzima	Proporção (m/v)	Temperatura (°C)	Tempo (h)	pH
<i>Seleção de enzima e proporção</i>					
1	Celulase	1:5	60	2	4
2	Celulase	1:10	60	2	4
3	Celulase	1:5	60	4	4
4	Celulase	1:10	60	4	4
5	Pectinase	1:5	60	2	4
6	Pectinase	1:10	60	2	4
7	Pectinase	1:5	60	4	4
8	Pectinase	1:10	60	4	4
9	<i>Blend</i>	1:5	60	2	4
10	<i>Blend</i>	1:10	60	2	4
11	<i>Blend</i>	1:5	60	4	4
12	<i>Blend</i>	1:10	60	4	4
<i>Seleção de temperatura e pH</i>					
1	<i>Blend</i>	1:5	40	2	5
2	<i>Blend</i>	1:5	40	4	5
3	<i>Blend</i>	1:5	40	2	6
4	<i>Blend</i>	1:5	40	4	6
5	<i>Blend</i>	1:5	50	2	5
6	<i>Blend</i>	1:5	50	4	5
7	<i>Blend</i>	1:5	50	2	6
8	<i>Blend</i>	1:5	50	4	6

4.3.3. Planejamento experimental

O processo de extração aquosa enzimática do óleo da polpa de tucumã foi realizado de acordo com os procedimentos descritos por Silva, Rodrigues e Silva (2019). Foi realizado um delineamento experimental fatorial completo 2^2 com três repetições no ponto central e quatro pontos axiais (totalizando onze ensaios) através do delineamento composto central rotacional (DCCR), combinado com a metodologia de superfície de resposta (MSR). A extração aquosa enzimática foi realizada nas melhores condições de processo determinadas

através de testes preliminares. Para as extrações, 10 g de polpa de tucumã autoclavada e solução tampão de ácido acético e acetato de sódio na proporção de 1:5 (m/v), em pH 4, foram adicionados em frascos Erlenmeyer e homogeneizados a 18000 rpm por 1 min utilizando um agitador Turrtec (TE-102, Tecnal, Brasil). As extrações foram realizadas em agitador orbital (MA832, Marconi, Brasil) a 2.897 g por 6 h. As variáveis independentes foram temperatura de reação (T) e concentração de enzima [E], e as variáveis resposta foram rendimento, propriedades físico-químicas e compostos bioativos. A Tabela 5 apresenta os valores codificados e reais das variáveis estudadas no processo de extração aquosa enzimática. A equação geral para o DCCR é apresentada através da Equação 1.

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i X_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i>j}^k \beta_{ij} X_i X_j \quad (k = n) \quad \text{Eq. (1)}$$

Onde, y representa a resposta prevista; β_0 , β_i , β_{ii} e β_{ij} são os coeficientes de regressão das variáveis para intercepto, linear (L), quadrático (Q) e termos de interação, respectivamente. X_i e X_j são os níveis das variáveis codificadas independentes.

Tabela 5 – Matriz do planejamento experimental do processo de extração aquosa enzimática com as variáveis codificadas e reais.

Ensaio	Variáveis codificadas		Variáveis reais	
	X_1	X_2	T (°C)	[E] (%)
1	-1	-1	40	0,5
2	-1	1	40	1,5
3	1	-1	60	0,5
4	1	1	60	1,5
5	$-\alpha$	0	35,85	1
6	$+\alpha$	0	64,14	1
7	0	$-\alpha$	50	0,29
8	0	$+\alpha$	50	1,7
9	0	0	50	1
10	0	0	50	1
11	0	0	50	1

Após a incubação, as enzimas foram inativadas a 75 °C por 5 min em banho termostático (MA127, Marconi, Brasil) e a mistura de reação foi centrifugada (Multifuge X1R, Termo Scientific, EUA) a 10000 × g por 20 min para a separação das fases oleosa e aquosa. O óleo de tucumã (fase superior) extraído foi coletado com auxílio de micropipeta e transferido para tubos eppendorfs de 2 mL, pesados e armazenados a -20 °C. Em seguida, a fase aquosa foi coletada, filtrada sob vácuo através de papel de filtro quantitativo para a eliminação de qualquer resíduo da torta, transferida para frascos âmbar e armazenada a -20 °C. O rendimento da extração de óleo foi calculado de acordo com a Equação 2 (TEIXEIRA et al., 2013).

$$Rendimento_{\text{óleo}} = \frac{m_o/m_p(g)}{m_t(g/g)} \times 100 \quad \text{Eq. (2)}$$

Onde m_o é a massa do óleo de tucumã obtido por extração aquosa enzimática (g); m_a é a massa da amostra (g); m_t é o teor de óleo obtido por extração em Soxhlet usando éter de petróleo como solvente, de acordo com o método nº 920.39 (AOAC, 1997).

4.3.4. Caracterização química do extrato oleoso

4.3.4.1. Teor de ácidos graxos livres (AGL)

O teor de AGL do óleo de tucumã foi determinado de acordo com o método Ca 5a-40 e expresso em % de ácido oleico (AOCS, 2004).

4.3.4.2. Índice de peróxido

O índice de peróxido do óleo foi determinado de acordo com o método Cd 8-53 (AOCS, 2004).

4.3.4.3. Estabilidade oxidativa

A estabilidade oxidativa do óleo foi determinada usando o equipamento Rancimat (873 Professional Biodiesel Rancimat, Metrohm, Switzerland), de acordo com o método Cd 12b-92 (AOCS, 2004). Foram utilizados 3 g de amostra, temperatura de 130 ± 0,1 °C e fluxo de ar de

20 L/h. A oxidação foi induzida pela passagem de ar pela amostra, mantida à temperatura constante. Os produtos voláteis de degradação foram coletados em água ultrapura, aumentando da condutividade elétrica desta. A curva de condutividade elétrica versus tempo foi automaticamente registrada no decorrer da reação. A estabilidade oxidativa foi expressa como período de indução (PI). O período de indução é o tempo necessário para atingir o ponto de inflexão da curva de condutividade.

4.3.4.4. Determinação de carotenoides totais

O teor de carotenoides totais do óleo foi determinado de acordo com o procedimento descrito por Rodriguez-Amaya (2001). A quantificação espectrofotométrica (NI 1600UV, Nova Instruments, Brasil) foi realizada a comprimento de onda de 450 nm em éter de petróleo. O teor total de carotenoides foi calculado usando o coeficiente de extinção do β -caroteno em éter de petróleo ($E^{1\%} = 2592$) (DAVIES_{et al}, 1976) e expresso como μg de β -caroteno por g de amostra.

4.3.5. Compostos bioativos

A caracterização dos compostos bioativos foi realizada nos extratos oleoso e aquoso.

4.3.5.1. Compostos fenólicos totais

O conteúdo fenólico total dos extratos oleoso e aquoso foi medido de acordo com o método proposto por Singleton e Rossi (1965). O extrato oleoso foi submetido a um tratamento prévio para a obtenção de um extrato polar, obtido pela adição de 6 mL de metanol (80 %) e 4 mL de hexano em 3 g do óleo. A mistura foi homogeneizada por 60 min à temperatura ambiente, centrifugada a 4000 g por 10 min e filtrada para obtenção da fase hidrofílica (fase metanólica) que foi analisada. O extrato aquoso foi analisado diretamente. As amostras das duas fases foram medidas em um espectrofotômetro UV-Vis (NI 1600UV, Nova Instruments, Brasil) em 760 nm e os resultados expressos em mg de equivalentes de ácido gálico (EAG) por 100 g de amostra.

4.3.5.2. Determinação da capacidade antioxidante total (ABTS)

A quantificação da atividade antioxidante dos extratos oleoso e aquoso foi realizada de acordo com o método do radical ABTS descrito por Re et al. (1999). Para o extrato oleoso, foi necessária a solubilização em polissorbato 20 (1:4) e etanol (1:1). As absorbâncias das amostras foram medidas em 734 nm e os resultados foram expressos como micro mol/L de equivalente de Trolox/100 g.

4.3.6. Caracterização do óleo de tucumã obtido no melhor ensaio

O óleo de tucumã obtido no ensaio com as melhores condições para a extração, ou seja, no ensaio com rendimento e caracterização química e bioativa desejável, foi caracterizado quanto à composição em ácidos graxos, índices de qualidade nutricional, índice de iodo, índice de saponificação e ponto de fusão.

4.3.6.1. Composição em ácidos graxos

A composição em ácidos graxos do óleo de tucumã foi determinada pela conversão de ácidos graxos em ésteres metílicos (FAMES) de acordo com o método proposto por Rodrigues, Darnet e Silva (2010). A análise foi realizada em um cromatógrafo a gás (CP 3380, Varian, EUA) equipado com um detector de ionização de chama (FID) e com uma coluna capilar CP-Sil 88 (comprimento 60 m, diâmetro interno 0,25 mm, espessura do filme 0,25 mm; Varian Inc., EUA). As condições de operação foram: hélio (gás de arraste) a uma vazão de 0,9 mL/min, detector FID a 280 °C, injetor (split ratio 1:100) a 250 °C, e volume de injeção de 1 µL. A temperatura programada da coluna começou em 175 °C por 8 min, seguida de 2,0 °C/min até 180 °C por 28 min, e em seguida, 2,0 °C/min até 250 °C por 10 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. O tempo de retenção e a área de cada pico foram calculados usando o software Varian Star (versão 3.4.1, Varian, EUA). Os resultados foram expressos como porcentagens relativas de ácidos graxos totais.

4.3.6.2. Índices de qualidade nutricional

A qualidade nutricional do óleo de tucumã, foi avaliada através dos índices de aterogenicidade (IA) e trombogenicidade (IT) (ULBRICHT; SOUTHGATE, 1991), calculados com base na composição em ácidos graxos das amostras, de acordo com as Equações 3 e 4, respectivamente.

$$IA = \frac{C12:0 + 4 \times C14:0 + C16:0}{\Sigma AGMI + \Sigma AG\omega6 + \Sigma AG\omega3} \quad \text{Eq. (3)}$$

$$IT = \frac{C14:0 + C16:0 + C18:0}{(0.5 \times \Sigma AGMI) + (0.5 \times \Sigma AG\omega6) + (3 \times \Sigma AG\omega3) + (\Sigma AG\omega3 / \Sigma AG\omega6)} \quad \text{Eq. (4)}$$

Sendo, *C12:0*, *C14:0*, *C16:0*, e *C18:0* as massas percentuais relativas dos ácidos láurico, mirístico, palmítico e esteárico, respectivamente; AGMI é a massa percentual relativa de ácidos graxos monoinsaturados; *AG ω 6* e *AG ω 3* é a massa percentual relativa de ácidos graxos ω -3 e ω -6, respectivamente.

4.3.6.3. Índice de iodo

O índice de iodo foi calculado pelo método indireto Cd 1c-85 (AOCS, 2004).

4.3.6.4. Índice de saponificação

O índice de saponificação foi calculado pelo método indireto Cd 3a-94 (AOCS, 2004).

4.3.6.5. Ponto de fusão

O ponto de fusão do óleo de tucumã foi determinado pelo método do tubo capilar aberto, de acordo com o método Cc 1-25 (AOCS, 2004).

4.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

O software Statistica 7.0 (StatSoft Inc., EUA) foi utilizado para as análises estatísticas dos resultados. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) utilizando o teste de Tukey a 95 % de significância ($p \leq 0,05$).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. CARACTERIZAÇÃO DA POLPA DE TUCUMÃ-Í-DA-VÁRZEA

A Tabela 6 apresenta os resultados das análises de caracterização físico-química e de compostos bioativos das amostras de polpa de tucumã-í- da várzea obtidas em cada coleta.

Tabela 6 - Caracterização físico-química e bioativa das amostras de polpa de tucumã-í- da várzea obtida em diferentes coletas.

Mês de coleta	Lipídios (g/100 g)	Sólidos solúveis (°Brix)	Cor (<i>b</i> *)	Carotenoides (µg β-caroteno/g)	Compostos fenólicos (mg EAG/g)	Capacidade antioxidante (micro mol/L trolox/g)
Março	54,38 ± 0,5 ^b	8,87 ± 0,05 ^c	62,58 ± 0,54 ^{bc}	96,35 ± 2,06 ^a	2176,84 ± 22,49 ^a	150,37 ± 10,41 ^c
Abril	50,17 ± 0,4 ^c	8,8 ± 0,1 ^c	60,91 ± 0,36 ^d	87,29 ± 0,4 ^b	1746,58 ± 9,74 ^b	90,04 ± 5,91 ^d
Mai	47,84 ± 0,6 ^d	8,87 ± 0,05 ^c	63,84 ± 0,36 ^b	69,25 ± 0,3 ^c	1292,79 ± 11,16 ^d	169,39 ± 11,09 ^c
Junho	46,75 ± 0,5 ^e	9,17 ± 0,05 ^b	62,22 ± 0,74 ^{cd}	43,09 ± 0,73 ^d	1425,93 ± 18,28 ^c	212,60 ± 12,61 ^b
Outubro	56,36 ± 0,7 ^a	9,4 ± 0,1 ^a	67,49 ± 0,42 ^a	97,24 ± 0,67 ^a	2217,43 ± 20,72 ^a	302,32 ± 6,75 ^a

Médias seguidas de letras diferentes nas colunas indicam diferença estatística significativa pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Os teores de lipídios das amostras da polpa de tucumã-í- da várzea, coletadas em diferentes meses do ano, variaram de 46,75 a 56,36 %, sendo a amostra coletada em outubro a que apresentou maior concentração deste macronutriente. Os teores de lipídios obtidos para as amostras de tucumã-í-da-várzea estão em concordância com o observado para outras espécies de tucumã, que apresentaram concentrações na faixa de 26,60 a 58 % (YUYAMA et al., 2008; RODRIGUES et al., 2010; SANTOS et al., 2017).

As amostras de polpa de tucumã-í- da várzea apresentaram teores de sólidos solúveis totais na faixa de 8,87 a 9,4 °Brix. As amostras coletadas no mês de outubro apresentaram o maior valor para o teor de sólidos solúveis totais (9,4 °Brix). Santos et al. (2018) e Aragão (2013) obtiveram teores de sólidos solúveis variando de 7,75 a 11,60 °Brix para frutos de tucumã-í- da várzea, em concordância com os valores obtidos no presente estudo.

Com relação à coloração, as amostras da polpa de tucumã-í- da várzea apresentaram valores da coordenada b^* na faixa de 60,91 a 67,49. Esses valores representam coloração com tonalidades variando do amarelo ao laranja, coloração característica do fruto de tucumã quando está maduro devido à presença de carotenoides com tonalidade amarela, uma vez que são os principais pigmentos encontrados em frutos de tucumã (RODRIGUEZ-AMAYA; AMAYA-FARFAN; KIMURA, 2007). Assim como verificado para o teor de lipídios e de sólidos solúveis, a amostra coletada em outubro foi a que apresentou maior valor da coordenada b^* .

As maiores concentrações de carotenoides totais foram observadas nas amostras coletadas nos meses de março (96,35 $\mu\text{g } \beta\text{-caroteno/g}$) e outubro (97,24 $\mu\text{g } \beta\text{-caroteno/g}$). Segundo Kamffer et al. (2010), o nível de um fitoquímico particular, como os carotenoides, varia em diferentes frutas e vegetais, de acordo com a variedade cultivada, com o tempo de amadurecimento, o genótipo, as técnicas de cultivo e as condições climáticas que ocorrem durante o período pré-colheita.

As maiores concentrações de compostos fenólicos foram observadas para as amostras coletadas no mês de outubro (2217,43 mg EAG/g). Resultados inferiores foram reportados por Santos et al. (2018) ao estudarem os frutos de *Astrocaryum humani* Mart. Tais autores obtiveram três extratos diferentes: aquoso (62,17 mg GAE/100g), acetônico (87,80 mg EAG/100g) e etanólico (101,78 mg EAG/100g). Segundo Gaméz-Meza et al. (1999), a extração de compostos fenólicos em produtos naturais é afetada pelo solvente usado na extração de modo que quanto maior a polaridade do extrato, maior é o rendimento da extração. Além disso, Rocha et al. (2013) explicam que a extração de compostos antioxidantes é diferente em cada extrato devido a necessidade de maior ou menor concentrações dos antioxidantes para reduzir a atividade de radicais livres.

Burns et al. (2001) afirmam que os compostos fenólicos são elementos ativos na defesa contra as condições externas, como a luz, temperatura e umidade, portanto, ocorre o aumento na concentração fenólica durante o desenvolvimento da fruta, a fim de combater os compostos

reativos gerados durante a respiração. Dessa forma, pôde-se determinar o mês de outubro como a coleta ideal para seguimento do estudo de extração aquosa enzimática.

As amostras coletadas no mês de outubro foram selecionadas para a continuidade dos estudos por apresentarem os melhores resultados na caracterização físico-química e maiores valores de carotenoides, compostos fenólicos e capacidade antioxidante.

5.2. SELEÇÃO DAS CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS

5.2.1. Pré-tratamentos e métodos de incubação

Explique porquê o uso de autoclavagem aumentou o rendimento de extração do óleo. Provável que este tratamento térmico a alta pressão altere a parte cristalina da celulose, o que remove o impedimento estérico. Isso aumenta o acesso das enzimas celulasas à região.

As amostras da polpa de tucumã-í- da várzea foram submetidas a testes para a definição do melhor tipo de pré-tratamento e sistema de incubação a serem utilizados no processo de extração aquosa enzimática. Nestes testes, as extrações foram realizadas na temperatura de 60 °C, utilizando a enzima Celluclast® 1.5 L na concentração de 1 % e 10 g de amostra. Os rendimentos e as condições utilizadas em cada teste são apresentados na Tabela 7. O pré-tratamento de autoclavagem e a incubação em agitador orbital forneceu o maior rendimento de óleo (40,99 %) e, portanto, foi escolhido para ser utilizado no processo de extração. Yusoff et al. (2016) explicam que a agitação aumenta o rendimento da extração, pois, quanto maior a velocidade de agitação, melhor a mistura e ruptura da parede celular e consequente maior liberação de óleo. Os resultados apresentados corroboram com o esperado, pois, o uso de tratamento térmico aumentou o rendimento da extração, assim como no estudo reportado por Santos & Ferrari (2005) em que o rendimento da extração aquosa de óleo de soja foi potencializado após o emprego de secagem em estufa a 105 °C por 30 minutos.

Tabela 7 – Rendimentos obtidos nos testes para definição das condições de pré-tratamento para a extração aquosa enzimática.

Teste	Pré-tratamento	Sistema de incubação	Rendimento (%)
1		Banho termostático	2,66 ± 0,1 ^g
2	<i>In natura</i>	Banho termostático + agitação	4,44 ± 0,24 ^f
3		Agitador orbital	21,20 ± 0,02 ^d

4		Banho termostático	$8,36 \pm 0,19^h$
5	Autoclave	Banho termostático + agitação	$13,65 \pm 0,66^e$
6		Agitador orbital	$40,99 \pm 0,12^a$

7		Banho termostático	9,96 ± 0,47 ⁱ
8	Secagem	Banho termostático + agitação	10,61 ± 0,21 ⁱ
9		Agitador orbital	29,51 ± 0,03 ^b
10		Banho termostático	8,60 ± 0,2 ^h
11	Autoclave/secagem	Banho termostático + agitação	10,81 ± 0,31 ⁱ
12		Agitador orbital	24,25 ± 0,63 ^c

Médias seguidas de letras diferentes nas colunas indicam diferença estatística significativa pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

5.2.2. Enzima, proporção soluto:solvente, temperatura e pH

A Tabela 8 apresenta os rendimentos obtidos nos ensaios realizados para a seleção da enzima, proporção soluto:solvente, temperatura e pH. O maior rendimento (68,37 %) foi obtido com o uso do *blend* de enzimas. Jiao et al. (2014) explicam que pectinases, associadas com outras carbohidrolases, como celulasas, vem sendo estudadas visando a sua aplicação na extração de óleos vegetais, como óleo de oliva, soja, semente de abóbora e dendê.

Os ensaios realizados utilizando a menor proporção soluto:solvente (1:5 m/v) testada foram os que apresentaram os maiores rendimentos em todos os ensaios. Comportamento semelhante foi observado por Teixeira et al. (2013) na extração de óleo de dendê. Li et al. (2016) explicam que a adição de muita umidade reduz a concentração de enzima e amostra, reduzindo assim a eficiência de extração.

O melhor pH para a atuação do *blend* de enzimas foi o 4. Resultado semelhante foi reportado por Yusoff et al. (2016) ao extrair óleo de moringa, onde o pH satisfatório das misturas enzimáticas foi inferior a 6. Segundo estes autores, a temperatura de 60 °C é a mais eficiente para melhorar o rendimento de extração de óleo, porém, explicam que a menor temperatura de processamento é favorável para a preservação da qualidade do óleo.

Os maiores rendimentos de óleo foram obtidos nos testes utilizando as seguintes condições: enzima = *blend* (1:1); proporção massa de amostra/solução tampão = 1:5 (m/v) e pH = 4. Além disso, rendimentos mais elevados foram obtidos nos ensaios realizados em temperaturas mais elevadas.

Tabela 8 – Testes realizados para a seleção da enzima, proporção soluto:solvente, temperatura e pH.

Teste	Enzima	Proporção (m/v)	Temperatura (°C)	Tempo (h)	pH	Rendimento (%)
<i>Seleção de enzima e proporção</i>						
1	Celulase	1:5	60	2	4	54,70 ± 1,81 ^{fg}
2	Celulase	1:10	60	2	4	47,86 ± 1,80 ^d
3	Celulase	1:5	60	4	4	65,29 ± 1,70 ^{ab}
4	Celulase	1:10	60	4	4	58,11 ± 1,42 ^{cf}
5	Pectinase	1:5	60	2	4	53,67 ± 0,68 ^g
6	Pectinase	1:10	60	2	4	42,92 ± 0,53 ^e
7	Pectinase	1:5	60	4	4	64,79 ± 1,20 ^b
8	Pectinase	1:10	60	4	4	54,76 ± 1,76 ^{fg}
9	<i>Blend</i>	1:5	60	2	4	56,80 ± 0,12 ^{fg}
10	<i>Blend</i>	1:10	60	2	4	45,98 ± 0,22 ^{de}
11	<i>Blend</i>	1:5	60	4	4	68,37 ± 0,77 ^a
12	<i>Blend</i>	1:10	60	4	4	60,53 ± 0,12 ^c
<i>Seleção de temperatura e pH</i>						
1	<i>Blend</i>	1:5	40	2	5	36,34 ± 0,72 ^e
2	<i>Blend</i>	1:5	40	4	5	42,57 ± 0,18 ^c
3	<i>Blend</i>	1:5	40	2	6	33,68 ± 0,53 ^f
4	<i>Blend</i>	1:5	40	4	6	39,56 ± 0,35 ^d
5	<i>Blend</i>	1:5	50	2	5	51,66 ± 1,42 ^g
6	<i>Blend</i>	1:5	50	4	5	55,58 ± 0,72 ^a
7	<i>Blend</i>	1:5	50	2	6	48,82 ± 0,71 ^b
8	<i>Blend</i>	1:5	50	4	6	52,39 ± 0,71 ^g

Médias seguidas de letras diferentes nas colunas indicam diferença estatística significativa pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

5.3. PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

A Tabela 9 apresenta os resultados do DCCR para o rendimento, teor de AGL, índice de peróxido, período de indução (PI), carotenoides totais, compostos fenólicos totais (CFT) e capacidade antioxidante. A análise de regressão foi realizada para ajustar as variáveis de resposta em função das variáveis independentes.

A partir das faixas de temperaturas e concentrações enzimáticas utilizadas no planejamento experimental foi possível obter respostas preditivas para o rendimento, teor de AGL, índice de peróxido, estabilidade oxidativa e carotenoides totais. Na Figura 3 são apresentadas as superfícies de resposta geradas através dos modelos propostos para as variáveis significativas do planejamento da extração enzimática do óleo de tucumã-í-da-várzea, considerando os pontos médios da temperatura e da concentração de enzima. Estas superfícies confirmam a análise dos efeitos realizados e permitem visualizar a variação da resposta para cada parâmetro estudado.

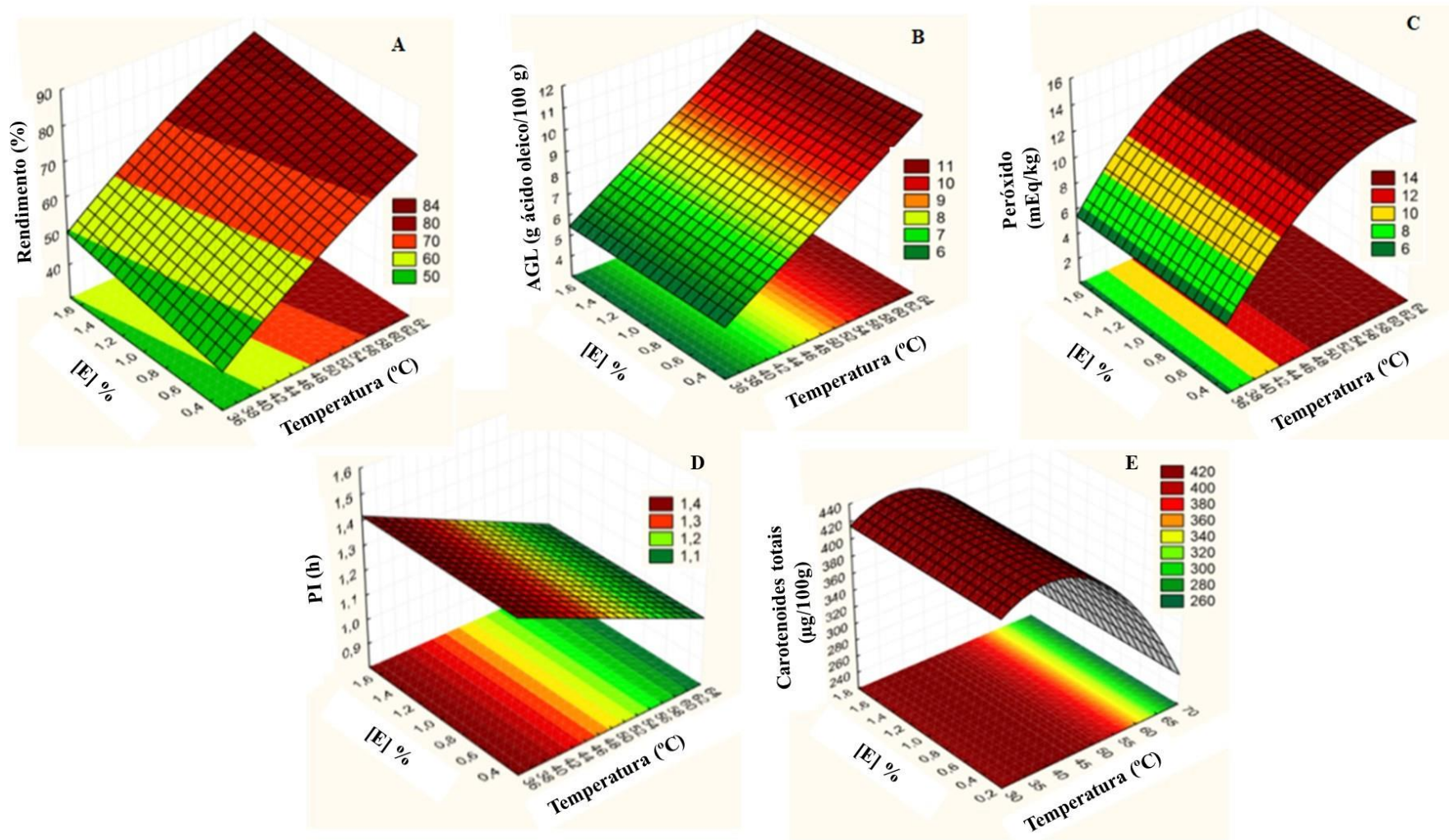


Figura 3 - Superfície de resposta usando o modelo proposto para: (A) Rendimento, (B) AGL, (C) Peróxido, (D) PI e (E) carotenoides totais.

Tabela 9 - Matriz experimental do delineamento composto central rotacional (DCCR) para o processo de extração aquosa enzimática do óleo de tucumã-í-da-várzea.

Ensaio	T (°C)	[E] (%)	Extrato oleoso						Extrato aquoso		
			R (%)	AGL (%)	Peróxido (meq/kg)	PI (h)	Carotenoides (µg β-carotene/g)	CFT (mg EAG/100 g)	Capacidade antioxidante (µM Trolox/g)	CFT (mg GAE/100 g)	Capacidade antioxidante (micro mol/L Trolox/g)
1	40	0,5	49,84	5,19	6,99	1,36	429,74	107,72	138,35	1193,05	1506
2	40	1,5	52,83	6,38	6,96	1,40	433,74	126,66	188,14	1080,11	1465
3	60	0,5	73,33	10,53	13,17	1,15	350,45	91,81	54,93	696,12	753
4	60	1,5	78,86	10,30	13,31	1,12	353,71	93,87	27,36	705,25	994,67
5	35,85	1	45,79	5,46	6,49	1,42	431,64	126,66	193,93	1130,22	1691
6	64,14	1	81,51	10,74	14,89	1,08	320,32	90,95	57,79	681,70	750,66
7	50	0,29	60,35	9,47	13,48	1,20	412,26	155,12	93,42	796,06	2185,67
8	50	1,7	70,77	9,19	13,27	1,26	409,85	158,04	146,98	1019,07	2208
9	50	1	65,90	8,67	12,82	1,22	415,30	153,71	126,75	838,85	2141
10	50	1	66,27	8,21	11,76	1,24	415,93	152,41	125,14	834,53	2168,33
11	50	1	65,40	8,55	12,69	1,22	414,45	154,14	126,57	836,45	2144

5.3.1. Rendimento

O modelo quadrático para o rendimento de extração do óleo de tucumã-í-da-várzea, após a eliminação de termos não significativos ($p > 0,05$), em função da temperatura ($^{\circ}\text{C}$) (X_1) e da concentração de enzima (%) (X_2), está representado através da Equação 5. O efeito mais significativo para o processo de extração foi a temperatura (L), seguido pela concentração enzimática (L) que tiveram efeitos positivos indicando uma relação diretamente proporcional ao rendimento da extração. Silva et al. (2019) mostraram que o aumento da temperatura e da concentração de enzima (celulase) provocou o aumento no rendimento do óleo de buriti.

$$\text{Rendimento} = 65,51 + 25,01(X_1) + 5,81(X_2) - 2,43(X_1)^2 \quad \text{Eq. (5)}$$

As análises de variâncias (ANOVA) para cada variável estudada foram realizadas e a significância estatística da regressão e da falta de ajuste a um nível de confiança de 95 % ($p < 0,05$) foram verificadas utilizando teste F. A Tabela 10 apresenta os resultados obtidos na análise de variância para o rendimento. É possível observar que o valor de F calculado para regressão foi maior que o de F tabelado, assim como o valor de p foi menor que 0,05, isso demonstra que o modelo definido pela regressão é adequado e o valor de R^2 significa que o modelo pode explicar 99,3 % da variação na resposta.

Tabela 10 - Análise de variância para o rendimento.

ANOVA	SQ	GL	MQ	F cal	F tab ($p < 0,05$)	p	R^2 (%)
Regressão*	1327,46	3	442,49	93,06	19,16	0,0077	99,3
Resíduo	9,3	7	1,33				
Falta de Ajuste	8,92	5	1,78	9,37	19,30	0,0992	
Erro Puro	0,38	2	0,19				
Total	1336,76	10					

*Soma dos efeitos significativos; SQ - soma quadrática; GL - graus de liberdade; MQ - média quadrática.

Os resultados do DCCR (Tabela 9) mostraram que as melhores condições para a recuperação enzimática do óleo de tucumã ocorreram nas condições do ensaio 6, que recuperou 81,51 % do teor total de óleo da polpa nas seguintes condições operacionais: temperatura 64,14 $^{\circ}\text{C}$ e concentração enzimática de 1 %. A superfície de resposta para o

rendimento de extração de óleo é apresentada na Figura 3 (A). A análise do gráfico indica que a região máxima onde são obtidos os maiores rendimentos (70 a 80 %) compreende as maiores faixas de temperatura (acima de 50 °C) e as maiores concentrações de enzima (a partir de 1 %). Os resultados da Tabela 9 mostram que um aumento na concentração de enzima para uma mesma temperatura resultou em maior rendimento. O mesmo comportamento foi verificado para o aumento de temperatura, com maiores rendimentos sendo obtidos nos ensaios realizados nas temperaturas mais elevadas.

Os rendimentos de óleo de tucumã-í- da várzea obtidos nos ensaios de extração aquosa enzimática são equivalentes ou superiores aos obtidos através do método convencional de prensagem, cujo rendimento máximo é de aproximadamente 80 % (WILLEMS; KUIPERS; HAAN, 2008). Rendimentos superiores (acima de 99 %) são obtidos em comparação à métodos de extração utilizando solventes orgânicos. No entanto, esse método de extração provoca a redução da qualidade do óleo e apresenta diversos impactos negativos ao meio ambiente (WU; JOHNSON; JUNG, 2009; LATIF; ANWAR, 2011; LIU et al., 2016). Além disso, o processo de extração aquosa assistida por enzimas remove os fosfolipídios, o que elimina a etapa de degomagem do processo e reduz o custo geral do produto final (LATIF; ANWAR, 2011).

5.3.2. Teor de AGL e Peróxido

As equações de regressão para o teor de AGL, após a eliminação de termos não significativos ($p > 0,05$), são apresentadas através das Equações 6 e 7, respectivamente. Apenas a temperatura linear foi representada no modelo obtido para o teor de AGL, indicando que o aumento da temperatura do processo de extração provocou o aumento do teor de AGL do óleo. Já para o modelo do índice de peróxido, a temperatura foi o único efeito significativo do processo de extração, porém a temperatura linear influenciou de forma positiva e a temperatura quadrática de forma negativa, o que significa que o aumento da temperatura provoca o aumento no índice de peróxido e que a superfície de resposta terá de concavidade voltada para baixo.

$$\text{AGL} = 8,47 + 4,18(X_1) \quad \text{Eq. (6)}$$

$$\text{Peróxido} = 12,42 + 6,10(X_1) - 2,69(X_1)^2 \quad \text{Eq. (7)}$$

A Tabela 11 apresenta os resultados obtidos na análise de variância para o teor de AGL. Os resultados obtidos indicam que o modelo é significativo, pois o F calculado é aproximadamente 5 vezes maior do que a F tabelado ($F_{cal} = 93,06 > F_{tab} = 18,51$), e o $p < 0,05$, demonstrando que esta regressão foi estatisticamente significativa em nível de confiança de 95%. Além disso, o R^2 obtido foi de 0,9608 ($R^2 > 0,75$ indica aptidão do modelo), o que significa que o modelo pode explicar 96,08 % da variação na resposta.

Tabela 11 - Análise de variância para o teor de AGL.

ANOVA	SQ	GL	MQ	Fcal	Ftab ($p < 0,05$)	p	R^2
Regressão*	3,45	1	3,45	93,06	18,51	0,0016	96,08
Resíduo	3,56	9	0,39				
Falta de Ajuste	3,45	7	0,49	9,37	19,35	0,1069	
Erro Puro	0,11	2	0,05				
Total	7,01	10					

*Soma dos efeitos significativos; SQ: soma quadrática; GL: graus de liberdade; MQ: média quadrática.

A Tabela 12 apresenta os resultados obtidos na análise de variância para o índice de peróxido. É possível verificar que o modelo apresentou regressão significativa no nível de 95 % de confiança (F calculado superior ao F tabelado) com R^2 evidenciando que o modelo explicou 91,28 % da variação dos dados experimentais. O valor de F calculado da regressão foi 6,8 vezes maior que o F tabelado indicando que o modelo é preditivo. A falta de ajuste não foi significativa (F calculado menor que F tabelado), e isto mostra que os dados experimentais se ajustaram ao modelo obtido.

Tabela 12 - Análise de variância para o índice de peróxido.

ANOVA	SQ	GL	MQ	F cal	F tab ($p < 0,05$)	p	R^2 (%)
Regressão*	85,67	2	42,83	129,79	19	0,0327	91,28
Resíduo	8,17	8	1,02				
Falta de Ajuste	7,51	6	1,25	3,79	19,33	0,2235	
Erro Puro	0,66	2	0,33				
Total	93,84	10					

*Soma dos efeitos significativos; SQ: soma quadrática; GL: graus de liberdade; MQ: média quadrática.

O aumento da temperatura do processo extração provocou o aumento nos teores de AGL e nos valores de peróxido do óleo de tucumã-í-da-várzea. O teor de AGL e o índice de peróxido são parâmetros importantes para avaliar a qualidade de conservação de óleos vegetais. A Figura 3 (B) e (C) mostra que independente da concentração da enzima utilizada no processo, com o aumento da temperatura (60 °C), houve o aumento desses parâmetros. O teor de AGL variou de 5,19 a 10,74 % nos ensaios realizados (Tabela 9). Resultados semelhantes foram obtidos para a acidez do óleo bruto da polpa de tucumã (*Astracaryum vulgare*) obtido por prensagem mecânica, com teor de AGL de 8,89 %. Apesar de serem elevados, os teores de AGL obtidos no presente estudo são esperados para óleos e gorduras brutas da Amazônia e podem estar associados à presença de lipases endógenas nos frutos (FERREIRA et al., 2021; PEREIRA et al., 2018; SPERANZA et al., 2016).

O índice de peróxido das amostras obtidas nos ensaios de extração variou de 6,49 a 14,89 meq/kg. De acordo com o Codex Alimentarius (2005), o índice de peróxido máximo para óleos e gorduras prensados a frio e não refinados deve ser de 15 meq/kg. Portanto, todos os ensaios realizados permitiram obter o óleo de tucumã-í-da-várzea em concordância com o padrão estabelecido para os produtos de oxidação primária.

5.3.3. Estabilidade oxidativa

O modelo para a estabilidade oxidativa do óleo de tucumã-í-da-várzea, após a eliminação de termos não significativos ($p > 0,05$), em função da temperatura (°C) (X_1), está representado através da Equação 8. A análise estatística dos efeitos para a estabilidade oxidativa mostrou que a temperatura (L) foi única variável significativa. A temperatura apresentou influência negativa, ou seja, quanto maior a temperatura, menor a estabilidade oxidativa.

$$PI = 1,2 - 0,24(X_1) \quad \text{Eq. (8)}$$

A Tabela 13 apresenta a análise de variância para a estabilidade oxidativa. A partir dos dados obtidos foi verificada a significância da regressão e a não significância da falta de ajuste no nível de 95% de confiança ($p \leq 0,05$), utilizando o teste F, conforme Tabela 9. Como se observa na Tabela 13, o valor F calculado da regressão foi superior ao F tabelado e o F calculado da falta de ajuste foi menor que o F tabelado, revelando que os dados experimentais

se ajustaram ao modelo obtido. O coeficiente de correlação (R^2) indica que o modelo explicou 95,81% da variação dos dados experimentais.

Tabela 13 - Análise de variância para a estabilidade oxidativa.

ANOVA	SQ	GL	MQ	Fcal	Ftab ($p < 0,05$)	p	R^2
Regressão*	0,117	1	0,117	1170,0	18,51	0,0011	95,81
Resíduo	0,005	9	0,0005				
Falta de Ajuste	0,0048	7	0,0006	6	19,35	0,1709	
Erro Puro	0,0002	2	0,0001				
Total	0,1	10					

*Soma dos efeitos significativos; SQ: soma quadrática; GL: graus de liberdade; MQ: média quadrática.

De modo geral, o aumento de temperatura provocou a redução da estabilidade oxidativa do óleo de tucumã-í-da-várzea. No entanto, a Figura 3 (D) mostra que em temperaturas de extração abaixo de 45 °C houve o aumento da estabilidade oxidativa. O maior PI (1,42 h) foi verificado no ensaio 5, realizado na menor temperatura (35,85 °C). Os resultados obtidos para a estabilidade oxidativa do óleo de tucumã-í-da-várzea foram semelhantes ao de outros óleos tradicionais como o óleo de girassol (0,88 h), óleo de algodão (1,50 h) e óleo de soja (1,51 h) (ANWAR; BHANGER; KAZI, 2003); e ao óleo bruto de maracujá (0,75 h) (BEZERRA et al., 2017). Segundo Symoniuk et al. (2018), a estabilidade oxidativa de óleos e gorduras está diretamente relacionada às características de seus componentes individuais, como a composição em ácidos, conteúdo de antioxidantes e produtos de oxidação primária ou secundária.

5.3.4. Compostos bioativos

O modelo para o teor de carotenoides totais do óleo de tucumã-í-da-várzea está representado através da Equação 9. O modelo para o teor de carotenoides é apresentado em função da temperatura (°C) (X_1) e da concentração de enzima (%) (X_2).

$$\text{Carotenoides totais} = 415 - 79,19(X_1) + 0,92(X_2) - 40,5(X_1)^2 - 4,97(X_2)^2 - 0,37(X_1)(X_2) \quad \text{Eq. (9)}$$

A análise de variância para carotenoides totais, apresentada na Tabela 14, mostra que o modelo é significativo. O F calculado da regressão é aproximadamente 468 vezes maior do que a F tabelado e o F calculado da falta de ajuste menor que F tabelado, isto indica que os dados estão bem ajustados ao modelo obtido.

Tabela 14 - Análise de variância dos carotenoides totais.

ANOVA	SQ	GL	MQ	F cal	F tab ($p \leq 0,05$)	p	R ²
Regressão*	14841,08	3	4947,03	8994,6	19,25	0,0052	99,84
Resíduo	22,92	7	3,27				
Falta de Ajuste	21,82	5	4,36	7,93	19,33	0,1156	
Erro Puro	1,10	2	0,55				
Total	1336,76	10					

*Soma dos efeitos significativos; SQ: soma quadrática; GL: graus de liberdade; MQ: média quadrática.

A Figura 3 (E) mostra a superfície de resposta para o teor total de carotenoides do extrato oleoso. Os carotenoides são poderosos antioxidantes e sua ingestão na dieta humana está relacionada à redução do risco de doenças cardiovasculares, doenças imunes degenerativas crônicas, diabetes tipo 2, obesidade, certos tipos de câncer (mama, cervical, ovário, colorretal) e envelhecimento (BÖHM; EDGE; TRUSCOTT, 2012; RODRIGUEZ- CONCEPCION et al., 2018). Além disso, a ocorrência natural de antioxidantes está diretamente relacionada ao potencial de proteção à oxidação lipídica, principalmente em óleos com elevado teor de ácidos graxos insaturados, como é o caso do óleo de tucumã (ELISIA et al., 2013). Os óleos obtidos a partir dos frutos de palmeiras da Amazônia, como buriti, pupunha, tucumã e inajá, apresentam altos teores de vitaminas lipossolúveis, como o β - caroteno, além de serem considerados novas fontes de compostos de alto valor agregado, uma vez que os estudos têm demonstrado que eles possuem vários componentes bioativos, especialmente ácidos graxos insaturados, fitoesteróis, tocoferóis, entre outros (RODRIGUES; DARNET; SILVA, 2010; SANTOS; ALVES; ROCA, 2015; BARBI et al., 2019).

A análise da Figura 3 (E) indica que em temperaturas abaixo de 50 °C, são obtidos os maiores teores de carotenoides (400 a 440 μg β -caroteno/g). Além disso, a temperatura afetou negativamente o teor total de carotenoides do óleo de tucumã, comprovando que temperaturas mais elevadas podem diminuir o teor de carotenoides, resultado esperado já que esses compostos são sensíveis à temperatura (SANTOS; ALVES; ROCA, 2015). O mesmo efeito foi verificado para a concentração de enzima, como mostra a Tabela 9. Resultados

semelhantes foram obtidos por Silva, Rodrigues e Silva (2019) na extração aquosa enzimática de óleo de buriti.

Não foi possível estabelecer um modelo preditivo para o teor de compostos fenólicos e para a capacidade antioxidante dos extratos oleoso e aquoso. Portanto, qualquer temperatura ou concentração de enzima, dentro da faixa estudada, não levaria a uma diferença significativa desses resultados. É possível observar que a maior concentração de compostos fenólicos (158,04 mg EAG/100 g) do extrato oleoso foi alcançada no ensaio 8 (temperatura 50°C e concentração de enzima de 1,7 %). Esse resultado é superior ao relatado por Teixeira et al. (2013) em óleo de palma (1,74 mg EAG/100 g), e por Silva, Rodrigues e Silva (2019) em óleo de buriti (25,37 mg EAG/100 g).

O extrato aquoso corresponde à fase polar da extração enzimática de tucumã-í-da-várzea realizada sob diferentes temperaturas e concentrações de enzima. Valores mais elevados do conteúdo de CFT foram obtidos nos ensaios realizados nas menores temperaturas. Além disso, o conteúdo de CFT dos extratos aquosos foi superior ao obtido para os extratos oleosos. De acordo com Milanez et al. (2016), a maioria dos compostos fenólicos são solúveis em água, o que significa que, embora os dois tipos de extratos forneçam tendências semelhantes, a extração e quantificação do conteúdo de CFT da fase aquosa é mais adequada. Além disso, níveis elevados de compostos fenólicos, quando adicionados a outros compostos, promovem maior atividade antioxidante, o que poderia explicar os resultados obtidos para a capacidade antioxidante, que também foram maiores nos extratos aquosos do que nos extratos oleosos, com destaque para os resultados obtidos no ensaio 8. Rovaris et al. (2013) obtiveram resultados promissores ao realizarem a caracterização química e nutricional do resíduo líquido obtido na extração aquosa enzimática do óleo de soja, o que indica o grande potencial de aplicação da fase polar obtida nesses processos em diversos usos.

O maior potencial antioxidante do extrato oleoso foi obtido no ensaio 5 (193,93 µM Trolox/g), realizado na temperatura de 35,85 °C e concentração de enzima de 1 %. Já o extrato aquoso obtido no ensaio 8, com 2208 µM Trolox/g, foi o que obteve o maior potencial antioxidante utilizando a temperatura de 50 °C e concentração enzimática de 1,7 %, como mostra a Tabela 9. Após a análise geral do conjunto de variáveis estudadas, o ensaio 8 (temperatura 50 °C e concentração enzimática de 1,7 %) foi estabelecido como a melhor condição para a extração do óleo de tucumã, pois apresentou rendimento (70,77 %) compatível com métodos convencionais de extração e caracterização química e de compostos bioativos desejável.

5.4. CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO DE TUCUMÃ-Í- DA VÁRZEA OBTIDO NO MELHOR ENSAIO

A Tabela 15 apresenta a composição em ácidos graxos, índices de qualidade nutricional (AI e TI), índices de iodo e saponificação e ponto de fusão do óleo de tucumã obtido no ensaio com as melhores condições para a extração (ensaio 8).

Tabela 15 - Composição em ácidos graxos, índices de iodo e saponificação, índices nutricionais e ponto de fusão do óleo de tucumã-í- da várzea.

Ácido graxo	%
Ácido caprílico (C8:0)	0,1 ± 0,00
Ácido mirístico (C14:0)	0,1 ± 0,00
Ácido palmítico (C16:0)	6,5 ± 0,01
Ácido palmitoleico (C16:1, ω-7)	6,5 ± 0,01
Ácido margárico (C17:0)	0,1 ± 0,00
Ácido esteárico (C18:0)	16,6 ± 0,17
Ácido oleico (C18:1, ω-9)	62 ± 0,17
Ácido linoleico (C18:2, ω-6)	11,8 ± 0,06
Ácido α-Linolênico (C18:3, ω-3)	0,5 ± 0,00
Ácido araquídico (C20:0)	2,0 ± 0,05
Ácido behênico (C22:0)	0,3 ± 0,00
Σ Saturados	25,66 ± 0,17
Σ Monoinsaturados	61,99 ± 0,24
Σ Poliinsaturados	12,34 ± 0,06
Índice de aterogenicidade	0,09
Índice de trombogenicidade	0,6
Índice de iodo (g I ₂ /100 g)	75,14
Índice de saponificação (mg KOH/g)	190,89
Ponto de fusão (°C)	10,67

A composição em ácidos graxos indica que o óleo de tucumã-í-da-várzea é muito rico em ácidos graxos monoinsaturados, particularmente ácido oleico (61,99 %). A concentração de ácido oleico presente no óleo de tucumã está na mesma faixa encontrada em outros óleos da Amazônia, como óleo de inajá (60,43 %) (BARBI et al., 2019), o óleo de buriti (65,6 %) (SPERANZA et al., 2016) e óleo de mari (67,7 %) (RODRIGUES; DARNET; SILVA, 2010).

E é muito semelhante a encontrada no azeite de oliva extra virgem (68,1 a 76,55 %) (CAPORASO et al., 2015). Além disso, o ácido oleico apresenta maior estabilidade oxidativa em comparação aos ácidos graxos poliinsaturados e está associado à redução do risco de desenvolvimento de doenças cardíacas coronárias e respostas inflamatórias (AHMADI; MARANGONI, 2009; PACHECO et al., 2008). O ácido esteárico (16,6 %) é o principal ácido graxo saturado presente, enquanto o ácido linoleico (11,8 %) é o principal ácido graxo poliinsaturado.

A qualidade nutricional do óleo de tucumã-í- da várzea também foi avaliada através da composição em ácidos graxos usando dois índices (IA e IT), como mostra a Tabela 15. Os índices de aterogenicidade (IA) e trombogenicidade (IT) estão relacionados aos efeitos dos ácidos graxos saturados e insaturados no desenvolvimento de doenças cardíacas coronárias, sendo preferível que os lipídios apresentem menores valores de IA e IT, pois isso indica maior potencial de inibição à agregação plaquetária, redução do colesterol sérico e permite a manutenção das concentrações de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) em níveis sanguíneos normais (TURAN; SÖNMEZ; KAYA, 2007; ULBRICHT; SOUTHGATE, 1991). O óleo de tucumã-í- da várzea apresentou baixos valores de IA (0,09) e IT (0,6). Portanto, considerando os baixos valores dos indicadores lipídicos (IA e IT) e a elevada concentração de ácidos graxos insaturados (74,33 %), ômega-9, onde uma dieta rica nesses compostos está associada a menor risco relacionado a doenças cardíacas coronárias (JONES et al., 2015).

Os valores de iodo e saponificação (Tabela 15) estão relacionados ao grau de insaturação e ao comprimento médio da cadeia dos ácidos graxos presentes no lipídeo, respectivamente (PEREIRA et al., 2018). O óleo de tucumã-í- da várzea apresentou valor de iodo de 75,14 g I₂/100 g e valor de saponificação de 190,89 mg KOH/g. Resultados semelhantes foram obtidos por Ferreira et al. (2021) para o índice de iodo do óleo de tucumã-í- da várzea (*Astrocaryum vulgare*) (76,24 g I₂/100 g), por este apresentar teor de ácidos graxos insaturados (73 %) semelhante ao óleo de tucumã-í-da-várzea. Costa et al. (2016) avaliou a qualidade do óleo extraído de duas variedades de tucumã (*Astrocaryum vulgare* e *Astrocaryum aculeatum*) utilizando CO₂ supercrítico e obteve resultados superiores para o índice de saponificação (196,1 e 208,6 mg KOH/g, respectivamente), que estão relacionados às diferenças nas composições em ácidos graxos das diferentes espécies do fruto de tucumã. Além disso, quando comparado a outras opções de óleos da Amazônia, o óleo de tucumã-í-da-várzea apresenta valores de iodo semelhantes ao óleo de buriti (77,40 g I₂/100 g) e óleo de pataúá

(73,18 g I₂/100 g); e valores de saponificação semelhantes à gordura de cupuaçu (189,77 mg KOH/g) e ao óleo de patauá (181,52 mg KOH/g) (SERRA et al., 2019).

O óleo de tucumã-í-da-várzea apresentou ponto de fusão (Tabela 15) de 10,67 °C. Alguns parâmetros influenciam diretamente no ponto de fusão dos lipídios, como o comprimento da cadeia dos ácidos graxos que compõe a estrutura do triacilglicerol; o grau de insaturação e a posição do ácido graxo na molécula de glicerol. Além disso, o ponto de fusão é uma propriedade importante na caracterização de óleos vegetais pois influencia sua funcionalidade em muitos produtos preparados (FASINA et al., 2008).

6. CONCLUSÃO

A extração aquosa enzimática aplicada à extração de óleo de tucumã-í-da-várzea possibilitou a obtenção de rendimentos equivalentes aos métodos convencionais de extração, com estabilidade oxidativa comparável a óleos tradicionais comerciais, além de altos valores de carotenoides totais, CFT e atividade antioxidante. Além disso, os extratos aquosos obtidos apresentaram excelente qualidade química, demonstrada através dos altos valores de CFT e atividade antioxidante obtidos, o que indica o grande potencial de aplicação da fase polar obtida nesses processos em diversos usos. O óleo de tucumã-í-da-várzea apresentou uma composição em ácidos graxos rica em ácidos graxos insaturados, especialmente ácido oleico e linoleico. Além disso, mostrou excelentes índices de qualidade nutricional (IA e IT), sendo considerado um óleo de alto valor nutritivo e que pode ser utilizado para fins alimentícios em substituição à óleos tradicionais, como o azeite de oliva. Com base nos resultados deste estudo, a metodologia de extração aquosa enzimática é potencialmente viável para a obtenção de óleo de tucumã-í-da-várzea de excelente qualidade e é ambientalmente correta, pois não produz compostos orgânicos voláteis como poluentes atmosféricos, e o subproduto obtido (extrato aquoso) através da extração possui propriedades funcionais de alta qualidade e isento de produtos tóxicos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

AMAROWICZ, R.; PEGG, R. B.; RAHIMI-MOGHADDAM, P.; BARL, B.; WEIL, J. A. Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. **Food Chemistry**, v. 84, p. 551-562, 2010.

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, n. 2, p. 151-155, 2003.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis**, 16 th ed. Virginia, 1997.

AOCS, American Oil Chemists' Society. (2004). **Official methods and recommended practices of the AOCS**. 4th ed. Champaign.

ARAGÃO, A. B. **Caracterização bioquímica e centesimal das espécies *Astrocaryum vulgare* Mart. (tucumã) e *Endopleura uchi* (Huber) Cuatrec. (uxi) nativas da região Amazônica**. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Instituto de Química de Araraquara, 96 p., 2013.

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.

AYYANAR, M.; SUBASH-BABU, P. 2012. Syzygium cumini (L.) Skeels: A review of its phytochemical constituents and traditional uses. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 2, p. 240-246, 2012.

AZMIR, J.; ZAIDUL, I. S. M.; RAHMAN, M. M.; SHARIF, K. M.; MOHAMED, A.; SAHENA, F.; JAHURUL, M. H. A.; GHAFOOR, K.; NORULAINI, N. A. N.; OMAR, A. K. M. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. **Journal of Food Engineering**, v. 117, n. 4, p. 426-436, 2013.

AZZAZ, H. H.; MURAD, H. A.; KHOLIF, A. M.; HANFY, M. A.; GAWAD, M. H. A. Optimization of culture conditions affecting fungal cellulase production. **Research Journal of Microbiology**, v. 7, p. 23-31, 2012.

BALDISSERA^a, M. D.; SOUZA, C. F.; DOLESKI, P. H.; GRANDO, T. H.; SAGRILLO, M. R.; SILVA, A. S.; LEAL, D. B. R.; MONTEIRO, S. G. Treatment with tucumã oil (*Astrocaryum vulgare*) for diabetic mice prevents changes in seric enzymes of the purinergic system: Improvement of immune system. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 94, p. 374-379, 2017.

BALDISSERA^b, M. D.; SOUZA, C. F.; GRANDO, T. H.; COSSETIN, L. F.; SAGRILLO, M. R.; NASCIMENTO, K.; SILVA, A. S.; MACHADO, A. K.; CRUZ, I. B. M.; STEFANI, L. M.; KLEIN, B.; WAGNER, R.; MONTEIRO, S. G. Antihyperglycemic, antioxidant activities of tucumã oil (*Astrocaryum vulgare*) in alloxan-induced diabetic mice, and identification of fatty acid profile by gas chromatograph: New natural source to treat hyperglycemia. **Chemico-Biological Interactions**, v. 270, p. 51-58, 2017.

BARBI, R. C. T.; SOUZA, A. R. C.; HAMERSKI, F.; TEIXEIRA, G. L.; CORAZZA, M. L.; RIBANI, R. H. Subcritical propane extraction of high-quality inajá (*Maximiliana maripa*) pulp oil. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 153, n. 104576, 2019.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, v. 29, n. 1, p. 113-123, 2006.

BEZERRA, C. V.; RODRIGUES, A. M. C.; 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.

BHATTACHARJEE, P.; SINGHAL, R. S.; TIWARI, S. R. Supercritical carbon dioxide extraction of cottonseed oil. **Journal of Food Engineering**, v. 79, n. 3, p. 892–989, 2006.

BIANCO, É. M.; SANTOS, C. A. M. Propriedades antioxidantes de folhas e caules de *Bauhinia microstachya* (Raddi). **Revista Brasileira de Biociências**, v. 8, n. 3, p. 238-241, 2010.

BICHARA, C.M.G. **Estudo in vivo de uma suplementação rica em betacaroteno: biodisponibilidade e efeito antioxidativo no plasma humano**. Dissertação (mestrado). UFPA. Centro Tecnológico. Belém, 2007.

BÖHM, F.; EDGE, R.; TRUSCOTT, G. Interactions of dietary carotenoids with activated (singlet) oxygen and free radicals: Potential effects for human health. **Molecular Nutrition and Food Research**, v. 56, p. 205-216, 2012.

BONY, E.; BOUDARD, F.; BRAT, P.; DUSSOSSOY, E.; PORTET, K.; POUCHERET, P.; GIAIMIS, J.; MICHEL, A. Awara (*Astrocaryum vulgare* M.) pulp oil: Chemical characterization, and anti-inflammatory properties in a mice model of endotoxic shock and a rat model of pulmonary inflammation. **Fitoterapia**, v. 83, p. 33-43, 2012.

BORA, P. S.; NARAIN, N.; ROCHA, R. V. M; MONTEIRO, A. C. O; MOREIRA, R. A. Characterisation of the oil and protein fractions os *Tucuma* (*Astrocarym vulgare* Mart.) fruit pulp and seed kernel. **Ciencia y Tecnologia Alimentaria**, v. 3, n. 2, p. 111-116, 2001.

BRASIL. Resolução RDC nº 53 de 07 de outubro de 2014. Órgão emissor: ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/biblioteca-de-normas-vinhos-e-bebidas/resolucao-rdc-no-53-de-7-de-outubro-de-2014.pdf/view>. Acesso em: 03 de janeiro de 2019.

BRITTON, G. **Functions of Intact Carotenoids**. In: BRITTON, G., LIAAEN-JENSEN, S., PFANDER, H. (eds) *Carotenoids*. Carotenoids, vol 4. Birkhäuser Basel, 2008.

BURNS, J.; GARDNER, P. T.; MATTHEWS, D.; DUTHIE, G. G.; LEAN, M. E.; CROZIER, A. Extraction of phenolics and changes in antioxidant activity of red wines during vinification. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 12, p. 5797-5808, 2001.

CABRAL, F. L.; BERNARDES, V. M.; PASSOS, D. F.; OLIVEIRA, J. S.; DOLESKI, P. H.; SILVEIRA, K. L.; HORVARTH, M. C.; BREMM, J. M.; BARBISAN, F.; AZZOLIN, V. F.; TEIXEIRA, C. F.; ANDRADE, C. M.; CRUZ, I. B. M.; RIBEIRO, E. E.; LEAL, D. B. R. *Astrocaryum aculeatum* fruit improves inflammation and redox balance in phytohemagglutinin-stimulated macrophages. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 247, 12274, 2020.

CAPORASO, N.; SAVARESE, M.; PADUANO, A.; GUIDONE, G.; MARCO, E.; SACCHI, R. Nutritional quality assessment of extra virgin olive oil from the Italian retail market: Do natural antioxidants satisfy EFSA health claims?. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 40, p. 154–162, 2015.

CARDOSO, S. L. **Fotofísica de carotenóides e o papel antioxidante de caroteno**. Rio de Janeiro, 1996.

CASTRO, A. M.; PEREIRA JR, N. Production, properties and application of cellulases in the hydrolysis of agroindustrial residues. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 181-188, 2010.

CASTRO, M. D. L.; GARCÍA-AYUSO, L. E. Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future. **Analytica Chimica Acta**, v. 369, p. 1-10, 1998.

CAVALCANTE, P. B. **Frutas comestíveis da Amazônia**. Publicações Avulsas do Museu Goeldi, n.33, p. 1-61. Belém: CNPQ/ Museu Paraense Emílio Goeld, 1996.

CHEMAT, F.; ROMBAUT, N.; MEULLEMIESTRE, A.; TURK, M.; PERINO, S.; FABIANO-TIXIER, A.; ABERT-VIAN, M. Review of Green Food Processing techniques.

Preservation, transformation, and extraction. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 41, p. 357-377, 2017.

CHEN, F.; ZHANG, Q.; GU, H.; YANG, L. An approach for extraction of kernel oil from *Pinus pumila* using homogenate-circulating ultrasound in combination with an aqueous enzymatic process and evaluation of its antioxidant activity. **Journal of Chromatography A**, v. 1471, p. 68-79, 2016.

CLEMENT, C. R.; LLERAS, P. E.; VAN, L. J. O potencial das palmeiras tropicais no Brasil: acertos e fracassos das últimas décadas. **Agrociencias**, v. 9, p. 67-71, 2005.

CODEX. Codex Alimentarius Commission. **Codex Standards for Named Vegetable Oils**, CODEX STAN 210 (Revision 2005). FAO/WHO, Rome, 2005.

COMAN, V.; TELEKY, B.; MITREA, L.; MARTĂU, G. A.; SZABO, K.; CĂLINOIU, L.; VODNAR, D. C. Bioactive Potential of Fruit and Vegetable Wastes. **Advances in Food and Nutrition Research**, v. 91, p. 157-225, 2020.

COSTA, B. E. T.; SANTOS, O. V.; CORRÊA, N. C. F.; FRANÇA, L. F. Comparative study on the quality of oil extracted from two tucumã varieties using supercritical carbon dioxide. **Food Science and Technology**, v. 36, n. 2, p. 322-328, 2016.

DAVIES, B. H. (1976). **Carotenoids**. In T. W. Goodwin (Eds.), *Chemistry and biochemistry of plant pigments* (pp. 38-165). New York: Academic Press.

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, 113811, 2021.

DIDONET, A. A.; FERRAZ, I. D. K. Fruit trade of tucumã (*Astrocaryum aculeatum* G. Mey - Arecaceae) at local market-places in Manaus (Amazonas, Brazil). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, p. 353-362, 2014.

DOMINGUEZ, H.; NTHIEZ, M. J.; LEMA, J. M. Enzyme-assisted hexane extraction of soybean oil. **Food Chemistry**, v. 54, n. 2, p. 223-231, 1995.

ELISIA, I.; YOUNG, J. W.; YUAN, Y. V.; KITTS, D. D. Association between tocopherol isoform composition and lipid oxidation in selected multiple edible oils. **Food Research International**, v. 52, n. 2, p. 508-514, 2013.

FASINA, O. O.; CRAIG-SCHMIDT, M.; COLLEY, Z.; HALLMAN, H. Predicting melting characteristics of vegetable oils from fatty acid composition. **LWT - Food Science and Technology**, v. 41, n. 8, p. 1501-1505, 2008.

FERREIRA, E. S.; LUCIEN, V. G.; AMARAL, A. S.; SILVEIRA, C. S. Caracterização físico-química do fruto e do óleo extraído do tucumã (*Astrocaryum vulgare* Mart). **Alimentos e Nutrição**, v. 19, n. 4, p. 427-433, 2008.

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.

FERREIRA, M. J. A.; MOTA, M. F. S.; MARIANO, R. G. B.; FREITAS, S. P. Evaluation of liquid-liquid extraction to reducing the acidity index of the tucuma (*Astrocaryum vulgare* Mart.) pulp oil. **Separation and Purification Technology**, v. 257, 117894, 2021.

GAMÉZ-MEZA, N.; NORIEGA-RODRIGUEZ, J. A.; MEDINA-JUAREZ, L.; ORTEGA-GARCIA, J.; CÁZAREZ-CASANOVA, R.; ÂNGULO-GUERRENO, O. Antioxidant activity in soybean oil of extracts from Thompson grape bagasse. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 76, n. 12, p. 1445-1447, 1999.

GARCIA-CASTELLO, E. M.; RODRIGUEZ-LOPEZ, A. D.; MAYOR, L.; BALLESTEROS, R.; CONIDI, C.; CASSANO, A. Optimization of conventional and ultrasound assisted extraction of flavonoids from grapefruit (*Citrus paradisi* L.) solid wastes. **LWT - Food Science and Technology**, v. 64, n. 2, p. 1114-1122, 2015.

GÓMEZ-GARCIA, R.; MARTÍNEZ-ÁVILA, G. C. G.; AGUILAR, C. N. Enzyme-assisted extraction of antioxidative phenolics from grape (*Vitis vinifera* L.) residues. **Biotech**, v. 2, p. 297-300, 2012.

GONÇALVES, A. E. S. S.; LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I. Chemical composition and antioxidant/antidiabetic potential of Brazilian native fruits and commercial frozen pulps. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, p. 4666-4674, 2010.

GUEDES, A.M. **Estudo da extração de óleo da polpa de tucumã por CO₂ supercrítico**. Belém, Pará, 2006. Dissertação de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos - Universidade Federal do Pará.

GUNDUC, N.; EL, S. N. Assessing antioxidant activities of phenolic compounds of common Turkish food and drinks on in vitro lowdensity lipoprotein oxidation. **Journal of Food Science**, v. 68, n. 8, p. 2591-2595, 2003.

GUNSTONE, F. D. **The chemistry of oils and fats: Sources, Composition, Properties and Uses**. CRC Press LLC, Boca Raton, FL – USA, 2004.

GUNSTONE, F. D. **Vegetable Oils in Food Technology: Composition, Properties and Uses**. 1 st ed, p. 337, CRC Press, 2002.

HASKELL, M. **Provitamin A carotenoids as a dietary source of vitamin A**. In S. A. Tanumihardjo (Ed.), *Carotenoids and human health*. Humana Press, p. 249-260, 2013.

HU, B.; LI, Y.; SONG, J.; LI, H.; ZHOU, Q.; LI, C.; ZHANG, Z.; LIU, Y.; LIU, A.; ZHANG, Q.; LIU, S.; LUO, Q. Oil extraction from tiger nut (*Cyperus esculentus* L.) using the combination of microwave-ultrasonic assisted aqueous enzymatic method - design, optimization and quality evaluation. **Journal of Chromatography A**, v. 1627, 461380, 2020.

JAYANI, R. S.; SAXENA, S.; GUPTA, R. Microbial pectinolytic enzymes: A review. *Process Biochemistry*, v. 40, p. 2931-2944, 2005.

JIAO, J.; LI, Z. G.; GAI, Q. Y.; LI, X. J.; WEI, F. Y.; FU, Y. J.; MA, W. 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.; LAMARCHE, B.; COUTURE, P.; KRIS-ETHERTON, P. M.; WEST, S. G.; LIU, X.; FLEMING, J. A.; HANTGAN, R. R.; RUDEL, L. L. High-oleic canola oil consumption enriches LDL particle cholesteryl oleate content and reduces LDL proteoglycan binding in humans. **Atherosclerosis**, v. 238, n. 2, p. 231-238, 2015.

KAHN, F. El género *Astrocaryum* (Arecaceae). **Revista Peruana de Biología**, v. 15, n. 1, p. 29-46, 2008.

KAMFFER, Z.; BINDON, K. A.; OBERHOLSTER, A. Optimization of a Method for the Extraction and Quantification of Carotenoids and Chlorophylls during Ripening in Grape Berries (*Vitis vinifera* cv. Merlot). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 11, p. 6578-6586, 2010.

KARMAKAR, M.; RAY, R. R. Characterization of extra cellular thermostable endoglucanase from *Rhizopus oryzae* response surface methodology. **Research and Review in Biosciences**, v. 4, p. 50-55, 2010.

LAROZE, L.; SOTO, C.; ZÚÑIGA, M. E. Phenolic antioxidants extraction from raspberry wastes assisted by-enzymes. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 13, p. 1-11, 2010.

LATIF, S.; ANWAR, F. Aqueous enzymatic sesame oil and protein extraction. **Food Chemistry**, v. 125, n. 2, p. 679-684, 2011.

LI, X. J.; LI, Z. G.; WANG, X.; HAN, J. Y.; ZHANG, B.; FU, Y. J.; ZHAO, C. J. Application of cavitation system to accelerate aqueous enzymatic extraction of seed oil from *Cucurbita pepo* L. and evaluation of hypoglycemic effect. **Food Chemistry**, v. 212, p. 403-410, 2016.

LIRA, C. S.; BERRUTI, F. M.; PALMISANO, P.; BERRUTI, F.; BRIENS, C.; PÉCORA, A. A. B. Fast pyrolysis of Amazon tucumã (*Astrocaryum aculeatum*) seeds in a bubbling fluidized bed reactor. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 99, p. 23–31, 2013.

LIU, J.; GASMALLA, M. A. A.; LI, P.; YANG, R. Enzyme-assisted extraction processing from oilseeds: Principle, processing and application. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 35, p. 184-193, 2016.

MAEDA, R. N.; BARCELOS, C. A.; SANTA ANNA, L. M. M.; PEREIRA, J. N. Cellulase production by *Penicillium funiculosum* and its application in the hydrolysis of sugar cane bagasse for second generation ethanol production by fed batch operation. **Journal of Biotechnology**, v. 163, p. 38-44, 2013.

MAIA, G. C. H. M.; CAMPOS, M. S.; BARROS-MONTEIRO, J.; CASTILLO, J. E. L.; FALEIROS, M. S.; SALES, R. S. A.; GALENO, D. M. L.; LIRA, E.; SOUZA, F. C. A.; ORTIZ, C.; MORALES, L.; CARVALHO, R. P. Effects of *Astrocaryum aculeatum* Meyer (Tucumã) on diet-induced dyslipidemic rats. **Journal of Nutrition and Metabolism**, p. 1-9, 202367, 2014.

MATOS, K. A. N.; LIMA, D. P.; BARBOSA, A. P. P.; MERCADANTE, A. Z.; CHISTÉ, R. C. Peels of tucumã (*Astrocaryum vulgare*) and peach palm (*Bactris gasipaes*) are by-products classified as very high carotenoid sources. **Food Chemistry**, v. 272, p. 216-221, 2019.

MENDONÇA, I. M.; PAES, O. A. R. L.; MAIA, P. J. S.; SOUZA, M. P.; ALMEIDA, R. A.; SILVA, C. C.; DUVOISIN, S.; FREITAS, F. A. New heterogeneous catalyst for biodiesel production from waste tucumã peels (*Astrocaryum aculeatum* Meyer): Parameters optimization study. **Renewable Energy**, v. 130, p. 103–110, 2019.

MEYERS, K. J.; MARES, J. A.; IGO, R. P.; TRUITT, B.; LIU, Z.; MILLEN, A. E.; KLEIN, M.; JOHNSON, E. J.; ENGELMAN, C. D.; KARKI, C. K.; BLODI, B.; GEHRS, K.; TINKER, L.; WALLACE, R.; ROBINSON, J.; LEBLANC, E. S.; SARTO, G.; BERNSTEIN, P. S.; SANGIOVANNI, J. P.; IYENGAR, S. K. Genetic evidence for role of carotenoids in

age-related macular degeneration in the carotenoids in age-related eye disease study (CAREDS). **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 55, n. 1, p. 587–599, 2014.

MILANEZ, J. T.; NEVES, L. C.; SILVA, P. M. C.; BASTOS, V. J.; SHAHAB, M.; COLOMBO, R. C.; ROBERTO, S. R. Pre-harvest studies of buriti (*Mauritia flexuosa* L.F.), a Brazilian native fruit, for the characterization of ideal harvest point and ripening stages. **Scientia Horticulturae**, v. 202, p. 77-82, 2016.

MIRANDA, I. P. A.; RABELO, A. **Guia de identificação das palmeiras de Porto Trombetas - PA**. Manaus: Ed. da Universidade Federal do Amazonas, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, 365p. 2008.

MORAES, F. L. **Carotenóides: características biológicas e químicas**. Brasília, Distrito Federal, 2006. Monografia de Especialização em Qualidade em Alimento- Universidade de Brasília. Disponível em: <http://bdm.bce.unb.br/bitstream/10483/546/1/2006_FlaviaLuisaMorais.pdf>. Acesso em 02 de março de 2017.

MORETTO, E.; FETT, R. **Tecnologia de óleos e gorduras vegetais na indústria de alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 1998.

MOURE, A.; CRUZ, J. M.; FRANCO, D.; DOMÍNGUEZ, J. M.; SINEIRO, J.; DOMÍNGUEZ, H.; NÚÑEZ, M. J.; PARAJÓ, J. C. Natural antioxidants form residual sources. **Food Chemistry**, v. 72, p. 145-171, 2001.

MWAURAH, P. W.; KUMAR, S.; KUMAR, N.; ATTKAN, A. K.; PANGHAL, A.; SINGH, V. K.; GARG, M. K. Novel oil extraction technologies: Process conditions, quality parameters, and optimization. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 19, n. 1, p. 3-20, 2020.

NAMITHA, K. K.; NEGI, P. S. Chemistry and biotechnology of carotenoides. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 50, n. 8, p. 728-60, 2010.

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 & Biodegradation**, v. 88, p. 150-161, 2014.

NGUYEN, H. C.; VUONG, D. P.; NGUYEN, N. T. T.; NGUYEN, N. P.; SU, C. H.; WANG, F. M.; JUAN, H. Y. 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, 109992, 2020.

NIRANJAN, K.; HANMOUNGJAI, P.; PYLE, D. L. Enzyme-assisted water extraction of oil and protein from rice bran. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology** v. 77, p. 771-776, 2002.

NOVOZYMES, Biotimes, Editora Susanne Strand, nº 1, 2005.

O'BRIEN, R. D. **Fats and Oils – Formulating and processing for applications**. 2 Ed. CRC – Press LLC. – Florida, U.S.A.: 2003.

OGEDA, T. L.; PETRI, D. F. S. Biomass Enzymatic Hydrolysis. **Química Nova**, v. 33, n. 7, p. 1549-1558, 2010.

OLIVEIRA, M. S. P. **Caracterização e avaliação preliminar de germoplasma de tucumã (*Astrocaryum vulgare* Mart.) nas condições de Belém-PA**. Belém: EMBRAPA, p. 1-4, 1998.

OLIVEIRA, M. S. P.; COUTURIER, G.; BESERRA, P. Biologia da polinização da palmeira Tucumã (*Astrocaryum vulgare* Mart.). **Acta Botanica Brasilica**, v. 17, n. 3, p. 343-353, 2003.

PACHECO, Y. M.; LÓPEZ, S.; BERMÚDEZ, B.; ABIA, R.; VILLAR, J.; MURIANA, F. J. A meal rich in oleic acid beneficially modulates postprandial sICAM-1 and sVCAM-1 in normotensive and hypertensive hypertriglyceridemic subjects. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 19, n. 3, p. 200-205, 2008.

PANZELLA, L.; MOCCIA, F.; NASTI, R.; MARZORATI, S.; VEROTTA, L.; NAPOLITANO, A. Bioactive Phenolic Compounds from Agri-Food Wastes: An Update on Green and Sustainable Extraction Methodologies. **Frontiers in Nutrition**, v. 7, n. 60, 2020.

PEREIRA, E.; FERREIRA, M. C.; SAMPAIO, K. A.; GRIMALDI, R.; MEIRELLES, A. J. A.; MAXIMO, G. J. Physical properties of Amazon fats and oils and their blends. **Food Chemistry**, v. 278, p. 208–215, 2018.

PHANIENDRA, A.; JESTADI, D. B.; PERIYASAMY, L. Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. **Indian Journal of Clinical Biochemistry**, v. 30, n. 1, p. 11-26, 2015.

POLMANN, G.; BADIA, V.; FRENA, M.; TEIXEIRA, G. L.; RIGO, E.; BLOCK, J. M.; FELTES, M. M. C. Enzyme-assisted aqueous extraction combined with experimental designs allow the obtaining of a high-quality and yield pecan nut oil. **LWT - Food Science and Technology**, v. 113, 108283, 2019.

PRADO, A. **Composição fenólica e atividade antioxidante de frutas tropicais**. Dissertação de Mestrado. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 106p. Piracicaba, 2009.

PURI, M.; SHARMA, D.; BARROW, C. J. Enzyme assisted extraction of bioactives from plants. **Trend in Biotechnology**, v. 30, n. 1, p. 37-44, 2012.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying and improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 26, n. 9-10, p. 1231-1237, 1999.

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. **LWT - Food Science and Technology**, v. 65, p. 464-470, 2016.

ROCHA, M. S.; FIGUEIREDO, R. W.; ARAÚJO, M. A. M.; MOREIRA-ARAÚJO, R. S. R. Caracterização físico-química e atividade antioxidante (in vitro) de frutos do cerrado piauiense. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 4, p. 933-941, 2013.

RODRIGUES, A. M. C.; DARNET, S.; SILVA, L. H. M. Fatty acid profiles and tocopherol contents of buriti (*Mauritia flexuosa*), patawa (*Oenocarpus bataua*), tucuma (*Astrocaryum vulgare*), mari (*Poraquei baparaensis*) nad inaja (*Maximiliana maripa*) fruits. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 21, n. 10, p. 2000-2004, 2010.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **A guide to carotenoid analysis in food**. Washington: International Life Sciences Institute, 64 p, 2001.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; AMAYA-FARFAN, J.; KIMURA, M. Carotenoid composition of brazilian fruits and vegetables. **Acta Horticulturae**, v. 744, p. 409-416, 2007.

RODRIGUEZ-CONCEPCION, M.; AVALOS, J.; BONET, M. L.; BORONAT, A.; GOMEZ-GOMEZ, L.; HORNERO-MENDEZ, D.; LIMON, M. C.; MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A. J.; OLMEDILLA-ALONSO, B.; PALOU, A.; RIBOT, J.; RODRIGO, M. J.; ZACARIAS, L.; ZHU, C. A global perspective on carotenoids: Metabolism, biotechnology, and benefits for nutrition and health. **Progress in Lipid Research**, v. 70, p. 62-93, 2018.

ROSSO, V. V.; MERCADANTE, A. Z. Identification and Quantification of Carotenoids, By HPLC-PDA-MS/MS, from Amazonian Fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 13, p. 5062-5072, 2007.

ROVARIS, A. A.; BALSAMO, G. M.; COSTA, A. C. O.; ARISI, A. C. M.; MICKE, G. A.; PIOVEZAN, M.; PETKOWICZ, C. L.O.; AMANTE, E. R. 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.

SAGRILLO, M. R.; GARCIA, L. F. M.; FILHO, O. C. S.; DUARTE, M. M. M. F.; RIBEIRO, E. E.; CADONÁ, F. C.; CRUZ, I. B. M. Tucumã fruit extracts (*Astrocaryum*

aculeatum Meyer) decrease cytotoxic effects of hydrogen peroxide on human lymphocytes. **Food Chemistry**, v. 173, p. 741-748, 2015.

SAHA, S.; ROY, R. N.; SEN, S. K.; RAY, A. K. Characterization of cellulose producing bacteria from the digestive tract of tilapia, *Oreochromis mossambica* (Peters) and grass carp, *Ctenopharyngodon idella* (Valenciennes). **Aquaculture Research**, v.37, n.1, p. 1-9, 2006.

SÁNCHEZ-CAMARGO, A. P.; MONTERO, L.; STIGER-POUVREAU, V.; TANNIOU, A.; CIFUENTES, A.; HERRERO, M.; IBÁÑEZ, E. Considerations on the use of enzyme-assisted extraction in combination with pressurized liquids to recover bioactive compounds from algae. **Food Chemistry**, v. 192, p. 67-74, 2016.

SANTAMARIA, R. L.; REYES-DUARTE, M. D.; BARZANA, E.; FERNANDO, D.; GAMA, F. M.; MOTA, M.; LÓPEZ-MUNGUÍA, A. Selective enzyme-mediated extraction of capsaicinoids and carotenoids from chilli guajillo puya (*Capsicum annum* L.) using ethanol as solvent. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p 3063-3067, 2000.

SANTOS, M. F. G.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; SILVA, S. M.; SILVEIRA, M. R. S. Quality characteristics of fruits and oils of palms native to the Brazilian Amazon. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 39, e-305, 2017.

SANTOS, M. F. G.; ALVES, R. E.; ROCA, M. Carotenoid composition in oils obtained from palm fruits from the Brazilian Amazon. **Grasas Y Aceites**, v. 66, n. 3, e086, 2015.

SANTOS, M. F. G.; MARMESAT, S.; BRITO, E. S.; ALVES, R. E.; DOBARGANES, M. C. Major components in oils obtained from Amazonian palm fruits. **Grasas y Aceites**, v. 64, p. 328–334, 2013.

SANTOS, M. M. R.; FERNANDES, D. S.; CÂNDIDO, C. J.; CAVALHEIRO, L. F.; SILVA, A. F.; NASCIMENTO, V. A.; RAMOS, M. M.; SANTOS, E. F.; HIANE, P. A. Physical-chemical, nutritional and antioxidant properties of tucumã (*Astrocaryum huaimi* Mart.) fruits. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 39, n. 4, p. 1517-1531, 2018.

SANTOS, R. D.; FERRARI, R. A. Aqueous enzymatic extraction of soybean oil. **Food Science and Technology**, v. 25, n. 1, 2005.

SCHROTH, G.; MOTA, M. S. S.; LOPES, R.; FREITAS, A. F. Extractive use, management and in situ domestication of a weedy palm, *Astrocaryum tucuma*, in the central Amazon. **Forest Ecology and Management**, v. 202, n. 1-3, p. 161-179, 2004.

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

SHAHIDI, F.; JANITHA, P. K.; WANASUNDARA, P. D. Phenolic antioxidants. **Food Science & Nutrition**, v. 32, n. 1, p. 67-103, 1996.

SHARONI, Y.; LINNEWIEL-HERMONI, K.; KHANIN, M.; SALMAN, H.; VEPRIK, A.; DANILENKO, M.; LEVY, J. (2012). Carotenoids and apocarotenoids in cellular signaling related to cancer: A review. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 56, n. 2, p. 259-269, 2012.

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

SILVA, R. S.; SANTOS, C. L.; MAR, J. M.; KLUCZKOVSKI, A. M.; FIGUEIREDO, J. A.; BORGES, S. V.; BAKRY, A. M.; SANCHES, E. A.; CAMPELO, P. H. Physicochemical properties of tucumã (*Astrocaryum aculeatum*) powders with different carbohydrate biopolymers. **LWT - Food Science and Technology**, v. 94, p. 79-86, 2018.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144-158, 1965.

SIQUEIRA, F. G.; FERREIRA FILHO, E. X. Plant cell wall as a substrate for the production of enzymes with industrial applications. **Bentham Science Publishers**, v. 7, p. 54-60, 2010.

SKIBSTED, L. H. Carotenoids in antioxidant networks colorants or radical scavengers. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 10, p. 2409-2417, 2012.

SOMMER, A. Vitamin A deficiency and clinical disease: An historical overview. **The Journal of Nutrition**, v. 138, n. 10, p. 1835-1839, 2008.

SPERANZA, P.; FALCÃO, A. O.; MACEDO, J. A.; SILVA, L. H. M.; RODRIGUES, A. M. C.; MACEDO, G. A. Amazonian Buriti oil: chemical characterization and antioxidant potential. **Grasas Aceites**, v. 67, n. 2, e135, 2016.

STEPHENSON, C. B. Vitamin A, infection, and immune function. **Annual Review of Nutrition**, v. 21, n. 1, p. 167-192, 2001.

STEPHENSON, C. B. **Provitamin A carotenoids and immune function**. In: tanumihardjo s.a, editors. Carotenoids and human health. 1^a ed. New york: springer, p. 261-270, 2013.

SYMONIUK, E.; RATUSZ, K.; OSTROWSKA-LIGEZA, E.; KRYGIER, K. Impact of Selected Chemical Characteristics of Cold-Pressed Oils on their Oxidative Stability Determined Using the Rancimat and Pressure Differential Scanning Calorimetry Method. **Food Analytical Methods**, v. 11, p. 1095–1104, 2018.

TEIXEIRA, C. B.; MACEDO, G. A.; MACEDO, J. A.; SILVA, L. H. M.; RODRIGUES, A. M. 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.

TRINDADE, R. A. **Influência de antioxidantes naturais sobre o perfil lipídico de hambúrgueres bovinos submetidos à irradiação por Co60 e aceleradores de elétrons**. Dissertação de Mestrado, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares Universidade de São Paulo, 112 p. São Paulo, 2007.

TRIVERDI, N.; GRUPTA, V.; KUMAR, M., KUMARI, P.; JHA, B. An alkalihalotolerant cellulase from *Bacillus flexus* isolated from green seaweed *Ulva lactuca*. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, n. 2, p. 891-897, 2010.

TURAN, H.; SÖNMEZ, G.; KAYA, Y. Fatty acid profile and proximate composition of the thornback ray (*Raja clavata*, L. 1758) from the Sinop coast in the black sea. **Journal of Fisheries Sciences**, v. 1, n. 2, p. 97-103, 2007.

TZIA, C.; LIADAKIS, G. **Extraction Optimization in Food Engineering** (1st ed.). CRC Press, 2003.

ULBRICHT, T. L. V.; SOUTHGATE, D. A. T. Coronary heart disease: seven dietary factors. **The Lancet**, v. 338, n. 8773, p. 985-992, 1991.

VANKAR, P. S. Essential oils and fragrances from natural sources. **Resonance**, v. 9, n. 4, p. 30-41, 2004.

VASCONCELOS, A.; CAVACO-PAULO, A. Enzymatic removal of cellulose from cotton/polyester fabric blends. **Cellulose**, v. 13, p. 611-618, 2006.

VILAS-BOAS, A. A.; PINTADO, M.; OLIVEIRA, A. L. S. Natural bioactive compounds from food waste: Toxicity and safety concerns. **Foods**, v. 10, n. 7, 1564, 2021.

WILLEMS, P.; KUIPERS, N. J. M.; HAAN, A. B. Hydraulic pressing of oilseeds: Experimental determination and modeling of yield and pressing rates. **Journal of Food Engineering**, v. 89, n. 1, p. 8-16, 2008.

WU, J.; JOHNSON, L.A.; JUNG, S. Demulsification of oil-rich emulsion from enzyme-assisted aqueous extraction of extruded soybean flakes. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 2, p. 527-533, 2009.

YADAV, S.; DUBEY, A. K.; ANAND, G.; YADAV, D. Purification and characterization of pectin lyase secreted by *Aspergillus flavus* MTCC 10938. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v. 49, p. 400-405, 2013.

YUSOFF, M. M.; GORDON, M. H.; EZEH, O.; NIRANJAN, K. Aqueous enzymatic extraction of *Moringa oleifera* oil. **Food Chemistry**, v. 211, p. 400-408, 2016.

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 & Emerging Technologies**, v. 39, p. 129-136, 2017.

YUSOFF, M. M.; GORDON, M. H.; NIRANJAN, K. Aqueous enzyme assisted oil extraction from oilseeds and emulsion de-emulsifying methods: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 41, n. 1, p. 60-82, 2015.

YUYAMA, L. K. O.; MAEDA, R. N.; PANTOJA, L.; AGUIAR, J. P. L.; MARINHO, H. A. Processing and shelf-life evaluation of dehydrated and pulverized tucuman (*Astrocaryum aculeatum* Meyer). **Food Science and Technology**, v. 28, n. 2, p. 408-412, 2008.

ZENG, J.; XIAO, T.; NI, X.; WEI, T.; LIU, X.; DENG, Z.; LI, J. The comparative analysis of different oil extraction methods based on the quality of flaxseed oil. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 107, n. 104373, 2022.