



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

JÉZICA PRISCILA PEREIRA DA SILVA

EXTRAÇÃO AQUOSA DE ÓLEO DO BURITI (*Mauritia flexuosa*) ASSISTIDA POR
ENZIMAS

BELÉM - PA
2016

JÉZICA PRISCILA PEREIRA DA SILVA

**EXTRAÇÃO AQUOSA DE ÓLEO DO BURITI (*Mauritia flexuosa*) ASSISTIDA POR
ENZIMAS**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Pará como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador:

Prof. Dr^a. Luiza Helena Meller da Silva

BELÉM -PA

2016

**EXTRAÇÃO AQUOSA DE ÓLEO DO BURITI (*Mauritia flexuosa*) ASSISTIDA POR
ENZIMAS**

Por

JÉZICA PRISCILA PEREIRA DA SILVA

DATA: _____

CONCEITO: _____

BANCA EXAMINADORA:

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

Prof. Dr.^a Alessandra Santos Lopes
(PPGCTA /ITEC/UFPA – Membro interno)

Prof. Dr. Eder Augusto Furtado Araujo
(PPGCTA /ITEC/UFPA – Membro externo)

Prof. Dr. Hamilton Mendes Figueiredo
(PPGCTA /ITEC/UFPA – Membro externo)

*Ao Senhor meu Deus, por sua bondade,
misericórdia e infinito amor.*

*A minha família, em especial a minha mãe, que
é meu tesouro precioso, por todo carinho, zelo,
amor, pelo incentivo e compreensão.*

Dedico a vocês esta vitória!

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.”

José de Alencar

AGRADECIMENTOS

É excelente passar por uma jornada destas e ter tanto a agradecer e querer a tantos homenagear. É muito bom dizer obrigada a tantas pessoas que, neste período de mestrado, se mantiveram simplesmente presentes. Por isso meus sinceros agradecimentos...

Ao Senhor Jesus, por ser meu amigo em todos os momentos e me alcançar com graça e amor todos os dias. Foi seu abraço e sua bondade que me impulsionaram todas as manhãs. Obrigada por sua fidelidade! Tu és bom e teu amor dura para sempre...

A minha querida mãe, Josi, pelo amor, dedicação e incentivo. Você é uma bênção em minha vida, obrigada por tudo, te amo infinito!

A Adriana pelo seu apoio, compreensão e pelos momentos de descontração. Obrigada por tornar meus dias tão agradáveis!

A meu avô João, as minhas primas, em especial Ester, Karen e Atrycia, a meus primos, a minha mana de coração Amanda, a meu padrasto Junior, as minhas tias Patricia e Wilza... Vocês são amigos maravilhosos, obrigada por cada palavra de incentivo, carinho, pelas orações e apoio.

A minha orientadora Prof. Dr^a. Luiza Helena Meller da Silva, pelo conhecimento transmitido, profissionalismo, confiança e amizade.

Ao Prof. Dr. Antônio Rodrigues pelos ensinamentos e apoio na realização deste trabalho.

À Universidade Federal do Pará, ao Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela oportunidade, ao LCTEA e todos os funcionários que direta ou indiretamente contribuíram para realização deste trabalho.

A CNPq pela concessão de bolsa de estudos.

A todos os meus professores da pós-graduação por compartilharem de seus conhecimentos e experiências.

A prof. Dr^a. Lucia Lourenço por ceder o LAPOA para realização de alguns experimentos. Fui acolhida com muito carinho pela Cleide, Jaira e Gleice, obrigada queridas!

Ao prof. Dr. Eder Araujo pela ajuda na estatística e por colaborar no meu aprendizado.

Aos membros da banca examinadora pelo aceite do convite!

Aos meus amigos da turma de Mestrado Cesar, Blenda, Kharen, Gleice, Gilson, Patricia, Cintieley, João e Jardson por me proporcionarem momentos tão maravilhosos e agradáveis. Em especial... Danielle, que é uma amiga incrível, obrigada por sempre está do

meu lado, pela força e incentivo, você é uma irmã! Rafael Holanda meu querido amigo, obrigada pelo apoio e cumplicidade. Cleidiane minha pequena, você sabe o quanto gosto de você e te admiro, obrigada amiga por tudo.

A Vanessa Ferreira, pelos anos de amizade, confiança e carinho. Mayara, amiga obrigada por sempre está presente na minha vida. Priscilene pela amizade e apoio... E a todos os outros amigos pelo incentivo, porque mesmo quando distantes, estavam presentes em minha vida, em especial Fernanda Damin!

Aos companheiras do laboratório (LAMEFI), Werbeht, Aline Nakata, Robson, Waslley e Giselle, por tanta generosidade, disposição em ajudar, e pelas risadas compartilhadas... Vocês foram demais! Leticia, Hayana, Heloisa, Diego, Gabriel, Marlia, Paulo e Rebeca muitíssimo obrigada pela ajuda nas análises, lavagem de vidrarias, incentivos e companheirismo. Paula, Yasmin, Danilo, Dayala, Lauana, Lucas, Kharen, Carol, Evelyn, Marcio, Carina, Aline Ozana, Livia, Samiria e Raiane obrigada pelos momentos de descontração, apoio e amizade. Vocês são minha segunda família!!!

Obrigada a todos que mesmo não estando citados aqui, tanto contribuíram para a conclusão deste trabalho.

“Que todo o meu ser louve ao Senhor, e que eu não esqueça nenhuma das suas bênçãos!” Salmos 103:2.

RESUMO

SILVA, J. P. P. **Extração aquosa de óleo do buriti (*Mauritia flexuosa*) assistida por enzimas**, 2016, 86f. Dissertação: Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal do Pará, Belém - PA.

O objetivo deste trabalho foi investigar a utilização de diferentes enzimas no processo de extração aquosa de óleo do Buriti (*Mauritia flexuosa* L.) visando obter maior rendimento de extração e teor de compostos antioxidantes no óleo. Para avaliação da eficiência das diferentes enzimas (celulase, pectinase e alcalase) no processo de extração aquoso foi realizado um planejamento fatorial completo 2^3 com três repetições no ponto central utilizando delineamento composto central rotacional (DCCR) combinado com a metodologia de superfície de resposta (MSR), as variáveis independentes estudadas foram concentração de enzima ([E]), tempo de reação (t) e temperatura de reação (T) e as variáveis de resposta foram rendimento em óleo e carotenos totais. Um segundo estudo foi realizado, para avaliar o aumento da escala utilizando a enzima celulase (planejamento fatorial completo 2^3 com três repetições no ponto central utilizando DCCR combinado com a MSR, as variáveis [E], t e T, as variáveis de resposta foram rendimento em óleo e carotenos totais), foi realizado também a cinética de extração para celulase e para as combinação de enzimas. Dentre as enzimas estudadas a celulase foi a que apresentou maior rendimento de extração de óleo com 95,91 % e a maior concentração de carotenos totais com 3028,10 μg β caroteno/g óleo, nas condições operacionais T a 55°C, [E] a 4% e t de 3 horas. A variável mais significativa para esse planejamento foi a temperatura, seguida do tempo, que tiveram efeito positivo sobre o rendimento e a concentração de carotenos. A análise de variância foi realizada e verificou-se a significância da regressão e não significância da falta de ajuste no nível de 95% de confiança ($p < 0,05$), o coeficiente de determinação (R^2) foi 87,56 % para rendimento e 91,97 % para os carotenos totais. No segundo estudo, o rendimento máximo foi de 76,5 % e a maior concentração de carotenos totais foi 3119,47 μg β caroteno/g óleo, nas condições de T de 55 °C, [E] de 2 % e t de 6 horas, a análise de variância foi realizada e verificou-se a significância da regressão e não significância da falta de ajuste no nível de 95% de confiança ($p < 0,05$), o R^2 foi 97,68 % para rendimento e 94,50 % para os carotenos totais, mostrando uma boa correlação com a variáveis independentes. Na cinética de extração de óleo, a celulase obteve um rendimento maior que as combinações de enzimas. O processo de extração aquosa enzimático para o óleo de buriti é viável e obteve óleo com elevada concentração de compostos antioxidantes.

Palavras – chave: atividade enzimática, antioxidante, carotenos, rendimento.

ABSTRACT

SILVA, J. P. P. **Aqueous extraction of Buriti oil (*Mauritia flexuosa*) assisted by enzymes**, 2016, 86f. Dissertation: Masters in Food Science and Technology. Federal University of Pará, Belém - PA.

The objective of this study was to investigate the use of different enzymes in the aqueous extraction process of Buriti oil (*Mauritia flexuosa* L.) to obtain the highest yield and antioxidant compounds content in the oil. To evaluate the efficiency of the different enzymes (cellulase, pectinase and alcalase) in the aqueous extraction process, a full factorial design 2^3 was carried out with three replications at the center point using a central composite design (CCRD) combined with response surface methodology (RSM), the independent variables are the percentage concentration of enzyme in relation to fruit weight ([E]), reaction time (t) and reaction temperature (T), the response variables were the oil yield and total carotenes. A second study was conducted to evaluate the increase in scale using the enzyme cellulase (full 2^3 factorial design with three replications at the center using combined CCRD with the MSR, the variables [E], t and T, the response variables were yield oil and total carotenes) and the extraction kinetics was evaluated using cellulase and the combination of enzymes. Among the enzymes, cellulase was the one with the best oil extraction with 95.91% of the total pulp oil content with Buriti peel and the highest concentration of total carotenoids with 3028.10 β caroteno ug / g oil, using the operating conditions: T 55 ° C, [E] 4% et 3 hours. The most significant variable for this design was the temperature, followed by the time which had a positive effect on the yield and the carotenes's concentration. Analysis of variance was performed and it was possible to verify the significance of the regression, and no significant lack of fit with 95% of level of confidence ($p < 0.05$), the coefficient of determination (R^2) for yield was 87.56% and 91.97% for total carotenes. In the second study, the maximum yield was 76.5% and the highest concentration of total carotenes 3119.47 β caroteno ug / g oil was obtained by the assay 8 using T = 55 ° C, [E] = 2% and t = 6 hours, analysis of variance was performed and it was possible to observe the significance of the regression, and no significant lack of fit with 95% of level of confidence ($p < 0.05$), the R^2 for the yield was 97.68% and 94.50% for total carotenes, showing a good correlation with the independent variables. In the oil extraction kinetics, the cellulase obtained a higher yield than the combinations of enzymes. The aqueous enzymatic extraction process for Buriti oil is viable and obtained oil with a high concentration of antioxidant compounds.

Keywords: enzymatic activity, antioxidants, carotenes, yield.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Carotenos e xantofilas.....	19
Figura 2 Superfície de resposta e curva de contorno para efeito de (a) Concentração de Enzima com Temperatura; (b) Tempo com Temperatura; (c) Tempo com Concentração de enzima para rendimento de extração de óleo utilizando a células.....	48
Figura 3 Superfície de resposta e curva de contorno para efeito de (a) Concentração de Enzima com Temperatura; (b) Tempo com Temperatura; (c) Tempo com Concentração de enzima para rendimento de extração de óleo utilizando a pectinase.....	49
Figura 4 Superfície de resposta e curva de contorno para efeito de (a) Concentração de Enzima com Temperatura; (b) Tempo com Temperatura; (c) Tempo com Concentração de enzima para rendimento de extração de óleo utilizando a alcalase.....	50
Figura 5 Superfície de resposta e curva de contorno para efeito de (a) Concentração de Enzima com Temperatura; (b) Tempo com Temperatura; (c) Tempo com Concentração de enzima para carotenos totais utilizando a celulase.....	52
Figura 6 Superfície de resposta e curva de contorno para efeito de (a) Concentração de Enzima com Temperatura; (b) Tempo com Temperatura; (c) Tempo com Concentração de enzima para os carotenos totais utilizando a pectinase.....	53
Figura 7 Superfície de resposta e curva de contorno para efeito de (a) Concentração de Enzima com Temperatura; (b) Tempo com Temperatura; (c) Tempo com Concentração de enzima para os carotenos totais utilizando a alcalase.....	54
Figura 8 Superfície de resposta e curva de contorno para efeito de (a) Concentração de Enzima com Temperatura; (b) Tempo com Temperatura; (c) Tempo com Concentração de enzima para o rendimento na etapa II.....	61
Figura 9 Superfície de resposta e curva de contorno para efeito de (a) Concentração de Enzima com Temperatura; (b) Tempo com Temperatura; (c) Tempo com Concentração de enzima para os carotenos totais na etapa II.....	62
Figura 10 Cinética de extração enzimática.....	63
Figura 11 Correlação entre Fenóis Totais e ABTS.....	68

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Composição centesimal da polpa do buriti (%).....	17
Tabela 2 Perfil de ácidos graxos do óleo de Buriti.....	18
Tabela 3 Teores de carotenóides no óleo de buriti.....	20
Tabela 4 Resultados obtidos na extração aquosa enzimática de sementes ou frutas.	25
Tabela 5 Planejamento experimental para extração enzimática.....	31
Tabela 6 Níveis de variáveis para tratamento enzimático da celulase, etapa II.....	32
Tabela 7 Composição centesimal da polpa com casca do fruto de buriti.....	36
Tabela 8 Matriz experimental para tratamento enzimático na etapa I.....	38
Tabela 9 Coeficientes de regressão do rendimento utilizando a celulase.....	39
Tabela 10 Coeficientes de regressão do rendimento utilizando a pectinase.....	40
Tabela 11 Coeficientes de regressão do rendimento utilizando a alcalase.....	40
Tabela 12 Coeficientes de regressão dos carotenos totais utilizando a celulase.....	41
Tabela 13 Coeficientes de regressão dos carotenos totais utilizando a pectinase.....	42
Tabela 14 Coeficientes de regressão dos carotenos totais utilizando a alcalase.....	42
Tabela 15 Análise de variância do rendimento utilizando celulase.....	43
Tabela 16 Análise de variância do rendimento utilizando pectinase.....	44
Tabela 17 Análise de variância do rendimento utilizando alcalase.....	44
Tabela 18 Análise de variância para os carotenos totais utilizando celulase.....	45
Tabela 19 Análise de variância dos carotenos totais utilizando pectinase.....	45
Tabela 20 Análise de variância dos carotenos totais utilizando alcalase.....	46
Tabela 21 Influência do tampão, rotação e das enzimas juntas ou separadas no rendimento de extração enzimática.....	55

Tabela 22 Matriz experimental para tratamento enzimático na etapa II.....	56
Tabela 23 Coeficientes de regressão para o rendimento na etapa II.....	57
Tabela 24 Coeficientes de regressão para os carotenos totais na etapa II.....	58
Tabela 25 Análise de variância do rendimento na etapa II.....	59
Tabela 26 Análise de variância dos carotenos totais na etapa II.....	59
Tabela 27 Cinética de extração enzimática.....	63
Tabela 28 Resultados para fenóis totais do óleo de buriti.....	65
Tabela 29 Resultados da capacidade antioxidante do óleo de buriti.....	67

SUMÁRIO

RESUMO.....	VIII
ABSTRACT.....	IX
LISTA DE FIGURAS.....	X
LISTA DE TABELAS.....	XI
1 INTRODUÇÃO.....	15
2 OBJETIVOS.....	16
2.1 OBJETIVO GERAL.....	16
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	16
3 REVISÃO DA BIBLIOGRAFIA.....	17
3.1 BURITI.....	17
3.2 ÓLEO DE BURITI.....	18
3.2.1 Carotenos.....	19
3.2.2 Compostos Fenólicos.....	21
3.2.3 Atividade Antioxidante.....	22
3.3 EXTRAÇÃO DE ÓLEOS.....	23
3.3.1 Extração Aquosa Enzimática.....	24
3.3.2 Enzimas.....	25
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	29
4.1 LOCAL DO ENSAIO.....	29
4.2 MATERIAL.....	29
4.2.1 Matéria – Prima.....	29
4.2.2 Enzimas.....	29
4.3 MÉTODOS.....	29
4.3.1 Caracterização físico – química da matéria prima.....	29
4.3.2 Processo de Extração Aquosa Enzimática.....	30
4.3.3 Compostos Antioxidantes do Óleo de Buriti.....	33
4.3.4 Capacidade Antioxidante.....	34
4.3.5 Análise Estatística.....	35
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
5.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO – QUÍMICA DA MATÉRIA PRIMA.....	36
5.2 RESULTADO EXPERIMENTAL DO TRATAMENTO ENZIMÁTICO.....	36

5.2.1	Etapa I.....	36
5.2.2	Etapa II.....	55
5.2.3	Cinética de extração aquosa enzimática	62
5.3	FENÓIS TOTAIS	64
5.4	CAPACIDADE ANTIOXIDANTE (ABTS).....	66
5.5	CORRELAÇÃO ENTRE FENÓIS TOTAIS E ABTS.....	67
6	CONCLUSÃO.....	69
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	70

1 INTRODUÇÃO

A floresta amazônica é rica em frutos oleaginosos e representa um grande potencial econômico para a região. Um dos principais desafios para os pesquisadores é explorar e compreender as propriedades físicas e químicas desses produtos naturais visando promover uma alternativa para transformar estes recursos em matérias primas para a indústria (ALBUQUERQUE et al., 2003; ZANATTA et al., 2008; MANZI; COOMES, 2009; FERREIRA et al, 2011).

Os frutos das palmeiras da Amazônia são fontes alternativas e abundantes de óleos vegetais com um elevado valor nutritivo, já que são ricos em carotenos, tocoferóis e ácidos graxos insaturados (FRANÇA; MEIRELES, 1997; DURÃES et al., 2008).

Os óleos vegetais são importantes componentes nutricionais da dieta humana, fornecendo energia, ácidos graxos essenciais e vitaminas lipossolúveis. Atribuem características de sabor, aroma e textura aos alimentos e promovem a sensação de saciedade pós-ingestão (KITTS, 1996).

Os processos convencionais para extrair óleo de sementes oleaginosas ou polpas de frutas envolvem a extração mecânica e/ou extração com solvente. Normas de segurança ambientais e riscos à saúde pública exigem da indústria de alimentos alternativas à solventes orgânicos na extração de óleo como é o caso da extração aquosa assistida por enzimas que é uma tecnologia emergente (JIAO JIAO et al., 2014). Esta tecnologia tem sido amplamente aplicada para a extração de diferentes óleos como canola, semente de melão, oliva, semente de uva, gergelim, amendoim, soja, dendê e semente de abóbora (LATIF, DIOSADY; ANWAR, 2008; NYAM et al., 2009; NAJAFIAN et al., 2009; PASSOS et al., 2009; JIANG et al., 2010; TOWA et al., 2010; LATIF; ANWAR, 2011; WANG et al., 2011a; WANG et al., 2011b; QI, 2012; TEIXEIRA et al, 2013).

As enzimas são úteis para a extração de óleo, devido à sua elevada eficiência e especificidade e por possuírem a capacidade de hidrolisar e romper os constituintes da parede celular das matrizes oleaginosas e melhorar a liberação de conteúdos intracelulares (RANALLI; DE MATTIA, 1997).

Tendo em vista a escassa literatura sobre o emprego de enzimas no processo de extração de óleos vegetais da região amazônica, o presente trabalho visou estudar e avaliar melhores condições para extração de óleo do Buriti, com o intuito de gerar um produto com alto valor agregado.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo deste trabalho foi investigar a utilização de diferentes enzimas no processo de extração aquosa de óleo do Buriti (*Mauritia flexuosa L.*) visando obter maior rendimento e compostos antioxidantes no óleo.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Extrair o óleo de buriti utilizando diferentes enzimas;
- Selecionar a melhor condição de extração com base no rendimento e na concentração de antioxidantes.

3 REVISÃO DA BIBLIOGRAFIA

3.1 BURITI

A palmeira buriti (*Mauritia flexuosa* Lf), pertencente à família *Arecaceae*, é amplamente distribuída na floresta amazônica do Brasil (DELGADO; COUTURIER; MEJIA, 2007; MELO et al., 2011). Cresce em pântanos, bem como áreas sazonalmente inundadas ao longo dos rios e florestas (CUNHA et al., 2012). Possui elevado valor ecológico, cultural e econômico, tendo uma grande importância para a subsistência da população local, quase todas as partes da palmeira, das raízes aos frutos, é útil para as necessidades e as atividades humanas, tais como alimentação, vestuário, habitação, dentre outros (DARNET et al., 2011; BATAGLION et al., 2014; RULL; MONTOYA, 2014).

O fruto de buriti tem a polpa amarela e sabor peculiar, rica em carotenos e ácido ascórbico, que é bastante consumida pela população ribeirinha e utilizado para a fabricação de doces, geleias, sorvetes, compotas e vinhos (LORENZI et al, 2006; SILVA et al, 2007; CÂNDIDO; SILVA; ALGOSTINI-COSTA, 2015).

A composição da polpa do buriti já foi estudada por vários autores (Tabela 1), os valores lipídicos são expressivos, demonstrando ser uma importante fonte de lipídios.

Tabela 1 - Composição centesimal da polpa do buriti (%).

Componentes	Tavares <i>et al.</i> , 2003	Manhães; Sabaa-Srur, 2011	Carneiro; Carneiro, 2011	Darnet <i>et al.</i> , 2011	Manhães, 2014
Umidade	67,2±2,9	62,93±0,12	54,35±0,15	50,5±1,14	69,82±0,13
Cinzas	1,4±0,3	0,94±0,06	0,66±0,008	0,6±0,00	1,14±0,05
Lipídios	3,8±1,0	13,85±0,69	18,16±1,52	19,0±0,72	14,67±0,58
Proteínas	1,5±0,4	2,1±0,19	1,30±0,002	3,7±0,02	2,67±0,24
Carboidratos	26,1	8,25	25,23	26,2	11,7

Destaca-se a importância do óleo vegetal obtido da polpa pela sua composição em tocoferóis, carotenos (β -caroteno) e ácidos graxos essenciais que permitem sua aplicação em diversas indústrias: alimentícia, cosmética e de combustível (ROSSO; MERCADANTE, 2007; MELO et al, 2008).

3.2 ÓLEO DE BURITI

A floresta tropical da Amazônia inclui uma das áreas mais ricas em biodiversidade do mundo e possui uma abundante reserva de plantas com potencial para obtenção de óleos vegetais (ZANATTA et al, 2008; RODRIGUES; DARNET; SILVA, 2010; BATAGLION et al., 2014).

Babaçu (*Orbignya phalerata* Mart.), buriti (*Mauritia flexuosa*) e maracujá (*Passiflora edulis*) são exemplos de espécies economicamente importantes, cujos óleos e gorduras têm encontrado diversas aplicações nas indústrias de alimentos, farmacêuticas, cosméticas e têxteis (FERREIRA et al., 2011).

O óleo extraído da polpa do fruto de buriti possui grande interesse devido as suas propriedades físicas e químicas (MELO et al., 2011).

O óleo de buriti contém altas concentrações tocoferóis e carotenóides, especialmente β -caroteno que é responsável pela cor vermelho-alaranjado do óleo (DURÃES et al., 2008). Além disso, possui alta concentração de ácidos graxos insaturados, sendo o principal o ácido oleico (Tabela 2), o que corresponde cerca 75 % do teor total, essa composição é próxima a apresentada pelo azeite de oliva e óleo de canola (RIBEIRO; COELHO; BARRETO, 2012).

Tabela 2 - Perfil de ácidos graxos do óleo de Buriti.

Autores	Principais ácidos graxos		
	C 16:0	C 18:1	C 18:2
SILVA et al., 2009	16,78	74,06	4,94
RODRIGUES et al., 2010	18,75	75,50	2,15
FERREIRA et al., 2011	16,6	83,4	-
CUNHA et al., 2012	15,99	77,06	1,58
AQUINO et al., 2012	19,6	72,7	2,6

Os óleos vegetais são compostos principalmente por triacilgliceróis, acompanhados por níveis mais baixos de diacilgliceróis, monoacilgliceróis e ácidos graxos livres, além de outros componentes secundários. Além de serem fonte de ácidos graxos essenciais, também são importantes fontes de componentes minoritários considerados essenciais, com características antioxidantes e vitamínicas, como carotenóides, tocoferóis, esteróis e fenóis (GUNSTONE, 2013).

Os compostos minoritários desempenham um importante papel na estabilidade e no curso do processamento do óleo. Alguns deles podem afetar as características do produto final em termos de cor, sabor e odor.

3.2.1 Carotenos

Os carotenoides são compostos lipossolúveis produzidos como metabólitos secundários das frutas, vegetais, algas, fungos e algumas bactérias. Eles são responsáveis por conferir as colorações amarela, vermelha e laranja as frutas e vegetais (KIM et al., 2015). A maioria dos carotenoides apresenta como estrutura básica um tetraterpeno com esqueleto de 40 átomos carbono, formado por 8 unidades de isopreno ligadas de forma que a simetria é invertida no centro. Este extenso sistema de ligações duplas conjugadas (cadeia poliênica) forma o cromóforo absorvente de luz que proporciona um espectro de absorção visível que serve de base para sua identificação e quantificação (SHI et al., 2009; ZAGHDOUDI et al., 2015).

Os carotenóides podem ser classificados de acordo com a sua estrutura química em carotenos, cuja estrutura é composta apenas por átomos de carbono e de hidrogênio; e xantofilas, que apresentam além de carbono e hidrogênio, também oxigênio (DELGADO-VARGAS; JIMENEZ; PAREDES-LOPEZ, 2000; QUIRÓS; COSTA, 2006). Na Figura 1 são apresentados alguns exemplos de carotenóides dos grupos carotenos e xantofilas.

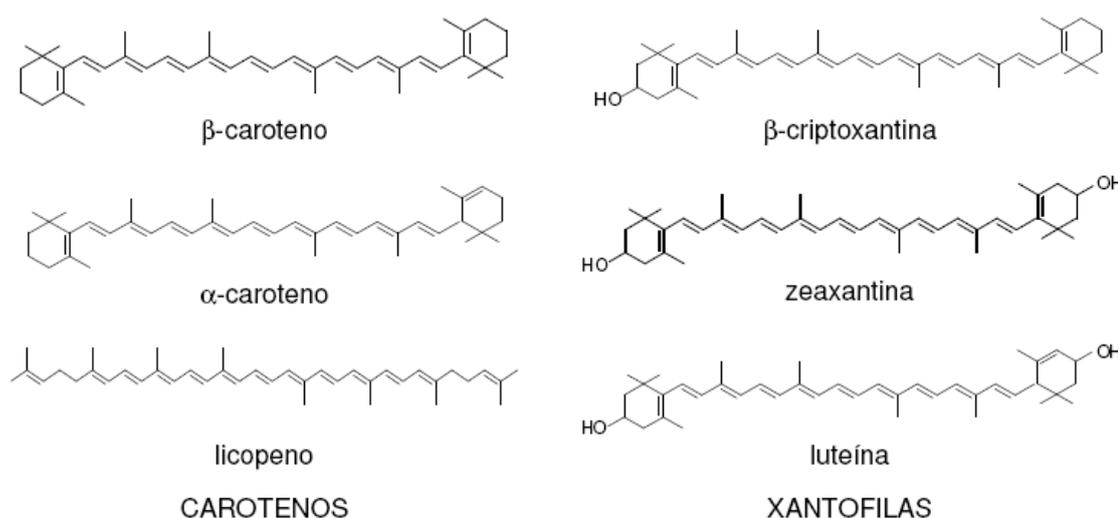


Figura 1 - Carotenos e xantofilas.

Fonte: Rodrigues-Amaya, 1999.

Mais de 600 carotenoides já foram identificados, incluindo a enorme variedade de carotenoides presentes nas bactérias, fungos e algas. No entanto, o homem só tem acesso a aproximadamente 40 carotenóides através da dieta, principalmente através das frutas e vegetais,

dentre os quais os mais consumíveis são β -caroteno, α -caroteno, luteína, zeaxantina, β -criptoxantina e licopeno (ZAGHDOUDI et al., 2015; RODRIGUEZ-AMAYA, 2001).

A atividade já comprovada de pró-vitamina A não se aplica a todos os carotenoides. Para que apresente esta atividade, o carotenoide deve possuir em sua estrutura o que corresponde à molécula de retinol (vitamina A), ou seja, deve possuir um anel- β não substituído, com uma cadeia poliênica de 11 carbonos. Basicamente, a estrutura do retinol é a metade da molécula do β -caroteno, com uma hidroxila adicionada no final da cadeia poliênica. Dessa forma, o β -caroteno é o carotenoide de maior potência vitamínica A e ao qual se atribui 100 % de atividade (RODRIGUEZ-AMAYA, 1996).

Os carotenóides fazem parte dos constituintes minoritários de alguns óleos vegetais, como o óleo de palma e o óleo de buriti (DARNET et al., 2011; RIBEIRO et al., 2012; TEIXEIRA et al., 2013).

O β -caroteno é o principal carotenoide do óleo de buriti, representa mais de 75 % dos carotenóides totais (RIBEIRO et al., 2012). A Tabela 3 apresenta alguns valores de concentração de carotenóides totais encontrados na literatura do óleo de buriti.

Tabela 3 - Teores de carotenóides no óleo de buriti.

Autores	Carotenóides ($\mu\text{g/g}$)
DE ROSSO E MERCADANTE, 2007	513,87
SILVA et al., 2009	1003
FERREIRA et al., 2011	692,9
DARNET et al., 2011	1576
RIBEIRO et al., 2012	1800
CUNHA et al., 2012	774

Ao longo das últimas décadas, o interesse por compostos naturais e bioativos como os carotenoides tem aumentado, devido a demanda dos consumidores por uma alimentação mais saudável. Além de sua capacidade de ser adicionado a alimentos e produtos industrializados como corante, aromatizante, e suplemento nutricional, os carotenoides estão envolvidos na prevenção de diversas doenças, como o câncer, degeneração macular relacionada a idade, catarata, doenças cardiovasculares e outras doenças relacionadas a baixa função imune; uma vez que apresentam atividade antioxidante capaz de bloquear o oxigênio *singlete*, uma forma ativa do oxigênio, impedindo a oxidação de tecidos orgânicos (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007; APARICIO-RUIZ; MÍNGUEZ-OSQUERA; GANDUL-ROJAS, 2011; SAMANIEGO-SÁNCHEZ et al., 2010; ZAGHDOUDI et al., 2015).

Os carotenos protegem os sistemas biológicos atuando como agentes redutores, de forma mais rápida e efetiva do que outros antioxidantes não enzimáticos, como os tocoferóis, ou ainda, atuando como sequestradores de radicais peroxila, reduzindo a oxidação do DNA e de lipídios. Sua atuação antioxidante se dá em baixos níveis de oxigênio, condição fisiológica ideal à maioria dos tecidos (BARREIROS et al., 2006).

A capacidade antioxidante dos carotenoides está relacionada ao longo sistema de ligações duplas conjugadas inerentes à cadeia poliênica que compõe sua estrutura, atuando como desativadores tanto de radicais livres quanto do oxigênio singlete (CARIS-VEYRAT, 2008).

3.2.2 Compostos Fenólicos

Os compostos fenólicos compreendem um amplo grupo de substâncias químicas classificadas como metabólitos secundários em plantas, caracterizados por conterem em sua estrutura no mínimo um anel aromático com um ou mais grupos hidroxila ligados, além de outros substituintes (APAK et al., 2007; HAMINIUK et al., 2012). Mais de 8.000 estruturas de compostos fenólicos são conhecidas, variando desde moléculas simples, tais como os ácidos fenólicos, até substâncias altamente polimerizadas como os taninos (DAI; MUMPER, 2010).

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

Os compostos fenólicos podem se encontrar associados com carboidratos, lipídeos, ácidos orgânicos, aminas e componentes da parede celular (celulose, hemiceluloses e lignina) (QUIRÓS-SAUCEDA et al., 2014; VELDERRAIN-RODRÍGUEZ et al., 2014).

Os polifenóis são comumente encontrados tanto na parte comestível quanto não-comestível de plantas e apresentam um papel importante na qualidade de frutas devido a sua contribuição no paladar (amargor e adstringência), cor e propriedades funcionais (CHEYNIER, 2005; GHARRAS, 2009).

As principais fontes de compostos fenólicos na dieta humana são frutas, vegetais e bebidas (chá e vinho) (LANDETE, 2012). O teor destes compostos presente nos vegetais é

muito dependente do grau de maturação, variedade, clima, composição do solo, localização geográfica e condições de armazenamento, dentre outros fatores (HAMINIUK et al., 2012).

Além dos fatores sensoriais e tecnológicos, os polifenóis tem merecido grande destaque na comunidade em geral, devido principalmente às suas propriedades antioxidantes.

Atividade antioxidante dos compostos fenólicos é mediada por uma variedade de mecanismos, incluindo a supressão ou o sequestro de espécies reativas de oxigênio e/ou nitrogênio, quelação de metais de transição, inibição de enzimas envolvidas no estresse oxidativo e regulação e/ou proteção dos sistemas de defesa endógenos (DAI; MUMPER, 2010; CHEYNIER, 2012; LUZIA; JORGE, 2014).

Bataglion et al., (2014) realizaram a quantificação e identificação dos componentes fenólicos na polpa de buriti, tendo sido encontrado seis ácidos fenólicos: quínico, ferúlico, cafeico, *p*-cumárico, protocatecólico e clorogênico. Esses compostos fenólicos são amplamente estudados por suas ações em câncer, doenças cardiovasculares, diabetes e doenças neurodegenerativas (ABDEL-WAHAB et al., 2003; ZHAO; MOGHADASIAN, 2008; LI et al., 2011). Além de ácidos fenólicos foram encontrados uma variedade de flavonoides, dentre essas, luteolina, catequina, epicatequina, miricetina, kaempferol, apegenina e quercentina. Koolen et al. (2013) encontrou quantidades consideráveis de compostos fenólicos e analisando o perfil fenólico indicou, principalmente, a presença de flavonoides na polpa de buriti.

Ribeiro (2010) e Ferreira et al. (2011) determinaram os compostos fenólicos totais para óleo de buriti e observaram o valor de 303 e 309,9 $\mu\text{g EAG/g}$ óleo, respectivamente.

3.2.3 Antioxidante

Os antioxidantes são substâncias que podem protelar ou impedir a oxidação de um substrato agindo na prevenção, interceptação e/ou no reparo contra a formação de substâncias nocivas as células ou tecidos (ROHENKOHL et al., 2011). Estas substâncias podem reduzir os danos adversos, desintegrando os oxidantes antes que estes reajam com os alvos biológicos, impedindo assim as reações em cadeia ou a ativação do oxigênio a produtos altamente reativos (MALTA, 2011).

O potencial antioxidante dos óleos e gorduras é determinado por sua composição físico-química e pela presença de compostos lipofílicos de natureza antioxidante. Os antioxidantes presentes em óleos vegetais atuam protegendo-os contra a ação de radicais livres, que levam a peroxidação lipídica, principal forma de degradação de óleos vegetais. Além da ação protetora ao próprio óleo, estes antioxidantes naturais apresentam bioatividade no

organismo humano, com potencial na prevenção de doenças crônicas (SZYDLOWSKA-CZERNIAK et al., 2008; CASTELLO-BRANCO; TORRES, 2011).

Existe uma grande variedade de antioxidantes naturais em óleos e gorduras vegetais, como carotenóides, tocóis (α , β , γ , δ tocoferóis e tocotrienóis), compostos fenólicos e esteróis.

3.3 EXTRAÇÃO DE ÓLEOS

Os processos industriais convencionais utilizados na produção de óleo consistem de prensagem contínua ou hidráulica e/ou extração por solventes (RIBEIRO et al., 2016).

A prensagem é o método mais popular para extração de óleo das oleaginosas. A operação em uma prensa mecânica é simples, não exigindo mão-de-obra qualificada para seu manuseio; e um sistema facilmente adaptável a diversos tipos de oleaginosas, bastando para isso alguns simples ajustes mecânicos. Um processo feito sem uso de produtos químicos e bem mais seguro, podendo ser instalado em pequenas propriedades rurais além de permitir o uso do subproduto da extração mecânica (SINGH; BARGALE, 2000).

A etapa de prensagem provê um óleo de boa qualidade, entretanto seu rendimento máximo é em torno de 80 % do total de óleo presente na semente (WILLWMS; KUIPERS; HAAN, 2008). Para melhorar o rendimento da extração esta técnica é combinada com outras métodos de extrações, como extração com solventes (RIBEIRO et al., 2016).

O método de extração com solventes é um dos mais amplamente utilizados na indústria devido ao elevado rendimento de óleo (acima de 99%) (WU; JOHNSON; JUNG, 2009). Quando utilizada essa metodologia, ocorre uma redução na qualidade do óleo obtido, essa redução se deve aos extensos processos de recuperação do solvente e a extração de componentes indesejados das paredes celulares (WILLWMS; KUIPERS; HAAN, 2008). Além disso, muitos solventes orgânicos são altamente tóxicos e inflamáveis, vem a partir de fontes não renováveis e depois do processo requer muitas etapas de tratamento dos seus resíduos (RIBEIRO et al., 2016).

A busca por processos de extração alternativos vem sendo estudado, métodos mais promissores como processamento de extração aquosa assistida por enzima que recebeu interesse como uma alternativa ambientalmente amigável para tecnologias de extração de óleo (SEKHON et al., 2015).

3.3.1 Extração Aquosa Enzimática

O processo de extração aquosa de óleos vegetais começou a ser estudado como uma alternativa mais segura e saudável, por volta de 1950. A utilização de enzimas no processo de extração por solventes ou através do sistema de prensa hidráulica foi inicialmente descrita por Sherba et al. (1972) e Adler-Nissen et al. (1986), como um pré-tratamento para aumentar o rendimento de obtenção do óleo (FREITAS; HARTMAN; COURI, 1996).

A extração assistida por enzima que é considerada uma técnica verde, toma vantagem dos processos de hidrólise enzimática para ajudar na libertação de compostos de interesse para o solvente de extração (SÁNCHEZ-CAMARGO et al., 2016). Essa extração, 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 (SINEIRO, 1998; COURI et al., 2000; FREITAS et al., 2003).

A associação de enzimas no processo de extração aquosa melhora o rendimento através da diminuição das barreiras, pois quebram as proteínas constituintes das paredes celulares e das pseudomembranas que envolvem as gotas de óleo (ROSENTHAL; PYLE; NIRANJAN, 1996; HANMOUNGJAI; PYLE; NIRANJAN, 2001; MARIANO, CORI E FREITAS, 2009). É um processo que consome pouca energia, reduz a aplicação de solventes orgânicos e fornece óleo de maior qualidade associado a qualidade superior da proteína da torta, mais segura para o consumo humano (SANTOS; FERRARI, 2005). Trabalhos utilizando enzimas no processamento de oleaginosas foram publicados como mostra a Tabela 4.

A desvantagem desse tipo de extração está na alta quantidade de enzima necessária para a hidrólise, normalmente superior a 1% em relação ao peso da matéria prima e, devido ao custo, limita o uso dessa tecnologia (SANTOS; FERRARI, 2005). Outra limitação está relacionada a dificuldade de evitar a emulsificação do óleo, citada em vários trabalhos (ROSENTHAL; PYLE; NIRANJAN, 1998; CHABRAND et al., 2008; WU; JOHNSON; JUNG, 2009).

A seleção das enzimas requer o conhecimento da composição do tecido vegetal da oleaginosa a ser processada. Tendo em vista que a parede celular é composta de diferentes polissacarídeos ligados a uma proteína estrutural, o extrato enzimático deve conter enzimas com diferentes atividades (FREITAS et al., 1996; GOMES et al., 2002).

Tabela 4 – Resultados obtidos na extração aquosa enzimática de sementes ou frutas.

Matéria Prima	Enzima	E (%)	Tempo	R (%)	Referência
Farelo de Arroz	Alcalase 0,6L	1	3h	79,1	Hanmoungjai; Pyle; Niranjan, 2001
Coco	Gamanase 1.0L	2	20h	84	Chen; Diosady, 2003
Germe de milho	Celluclast 1,5L Alcalase	8	20h	81,5 32,3	Moreau et al., 2004
Soja	Celluclast 1,5L	1	4h	13,01	Santos; Ferrari, 2005
	Alcalase 2,4L			44,6	
	Celluclast 1,5L + Alcalase 2,4L	3 6	6h 6h	37,61 44,6	
Canola	Pectinase, celulase e β -glucanase + alcalase	2,5 + 1,5	4h + 3h	76	Zhang; Wang; Xu, 2007
Amendoim	Alcalase 2,4L	1,5	5h	73,45	Jiang et al., 2010
Semente de Isatis indigotica	Celulase, protease e pectinase	1,82	1,38h	59,27	Gai et al., 2013
Chifre Amarelo	Celulase + pectinase + hemicelulase	1,8 + 1,3 + 2,5	1,75h	51,5	Li et al., 2013
Dendê	Pectinase, celulase e tanase	4	1h	81,15	Teixeira et al, 2013
Semente de abóbora	Celulase, pectinase e proteinase	1,4	1,09h	64,17	Jiao Jiao et al., 2014
Semente de Gergelim	Pectinex Ultra SPL e Alcalase 2.4L	10	8h	36,65	Ribeiro et al., 2016

E: Porcentagem de enzima em relação a massa de fruto (% m/v); R: Rendimento de óleo extraído (%).

3.3.2 Enzimas

O resultado da associação dos 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, celulasas, xilanases e proteases para ocasionar a ruptura da parede celular (SAHA et al., 2006).

3.3.2.1 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 celulasas 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 as suas diferentes aplicações industriais (KARMAKAR et al., 2011; SHI et al., 2011) 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 (VASCONCELOS; CAVACO-PAULO, 2006; ZHANG et al., 2006; CASTRO; PEREIRA Jr., 2010; SINGHANIA et al., 2010; YOON et al., 2014).

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., 2011). São compostos de endoglucanases (EnG), exoglucanases (ExG) e β -glicosidasas, 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 (CASTRO; PEREIRA JR, 2010; NARRA et al., 2014).

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).

3.3.2.2 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 (MURAD; AZZAZ, 2011).

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 pécicas e as protopectinases que solubilizam protopectina para formar pectina (JAYANI et al., 2005; YADAV et al., 2009).

3.3.2.3 Protease

Proteases são enzimas envolvidas na conversão de proteínas em aminoácidos e peptídeos. A sua produção é uma propriedade pertencente a todos os organismos e são geralmente constitutivas (BEG et al., 2002).

As proteases são classificadas em dois grupos principais, que são as exopeptidases e endopeptidases ou proteinases, dependendo do sítio de ação dessas enzimas na proteína. As exopeptidases iniciam o processo de degradação a partir das extremidades amino (N) ou carboxi-terminal (C) das proteínas, produzindo pequenos peptídeos ou mesmo aminoácidos. As endopeptidases clivam a proteína alvo na sua parte interna, longe das extremidades amino e carboxi-terminal, gerando dessa forma, peptídeos maiores (RAO et al., 1998).

As proteases constituem um dos mais importantes grupos de enzimas industriais com aplicações em diferentes indústrias em todo o mundo (RAO et al., 1998). As proteases têm sido intensamente estudadas devido à possibilidade de uso em diversos ramos industriais tais como nas indústrias de alimentos, farmacêutica, couro, detergente, diagnósticos, manejo de resíduos e de recuperação de prata usada em filmes de raios-X (GENCKAL; TARI, 2006).

O uso das enzimas nos processos industriais apresenta muitas vantagens já que são naturais, aceleram a maior parte dos processos bioquímicos, de baixo consumo energético, possuem baixa toxicidade e são altamente específicas para determinadas ações. Além disso, são

capazes de alterar as características de variados tipos de resíduos sem o uso de altas temperaturas, solventes orgânicos e extremos de pH, oferecendo, ao mesmo tempo, maior especificidade na reação, pureza no produto e redução no impacto ambiental (CHERRY; FIDANTSEF, 2003; MUSSATTO et al., 2007).

Inúmeras pesquisas que tratam da extração aquosa via enzimática, utilizam diferentes enzimas e condições, como pH, temperatura e tamanho do grão, com resultados específicos para cada estudo (ROSENTHAL, PYLE E NIRANJAN, 1996; NASCIMENTO et al., 2008; WU, JOHNSON E JUNG, 2009; ZHANG et al., 2012; TEIXEIRA et al., 2013; OZKAN; BILEK, 2015). Por isso, a comparação dos resultados apresentados por diferentes estudos e a seleção da combinação de enzimas para o melhor rendimento é dificultada, pois cada enzima atua em seu substrato específico e degrada diferentes componentes celulares.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 LOCAL DO ENSAIO

Este trabalho foi desenvolvido na Universidade Federal do Pará – UFPA, no Laboratório de Ciência, Tecnologia e Engenharia de Alimentos - LCTEA.

4.2 MATERIAL

4.2.1 Matéria – Prima

A matéria prima utilizada foi polpa+casca de buriti, as sementes foram previamente removidas, adquirida no mercado do Ver-O-Peso localizado na cidade de Belém - PA. A matéria prima foi armazenada à -10 °C em embalagens de 1kg até o momento de sua utilização.

4.2.2 Enzimas

As enzimas Celluclast[®] 1,5L (celulase), Pectinex[®] Ultra SP-L (pectinase) e Alcalase[®] 2.4L FG (protease) foram gentilmente cedidas pela empresa Novozymes[®]. As especificações referentes a cada uma das enzimas fornecidas pela empresa encontram-se no ANEXO 1.

4.3 MÉTODOS

4.3.1 Caracterização físico – química da matéria prima

4.3.1.1 Umidade

A umidade foi determinada pelo método gravimétrico, em estufa com circulação de ar da marca FABER série 0179, a 105 °C até peso constante, de acordo com a AOAC (2002), método n° 925.10.

4.3.1.2 Proteínas Bruta

O teor de proteínas totais foi determinado pelo método de Kjeldhal, em destilador TECNAL, modelo TE10018, com fator de correspondência nitrogênio proteína de 6,25; de acordo com AOAC (2002), método n° 920.87.

4.3.1.3 Lipídios Totais

O teor de lipídeos totais foi determinado por extração com éter de petróleo, em aparelho do tipo Soxhlet da marca LOGEM SCIENTIFIC CT-340, de acordo com AOAC (2002), método n° 922.06.

4.3.1.4 Resíduo Mineral Fixo

Foi determinado gravimetricamente conforme o método n° 923.03 da AOAC (2002), por incineração da matéria orgânica presente em 1g de amostra em forno mufla a 550°C, até peso constante.

4.3.1.5 Carboidratos

Determinado por diferença segundo Resolução RDC n° 360, de 23 de dezembro de 2003 (BRASIL, 2003).

4.3.2 **Processo de Extração Aquosa Enzimática**

O processo de extração aquosa enzimática foi realizado em duas etapas.

4.3.2.1 Etapa I

Para avaliação da eficiência das diferentes enzimas no processo de extração aquoso foi realizado um planejamento experimental fatorial completo 2^3 com três repetições no ponto central utilizando delineamento composto central rotacional (DCCR) combinado com a metodologia de superfície de resposta (MSR), totalizando dezessete ensaios para cada enzima estudada (celulase, pectinase e alcalase). As variáveis independentes foram concentração de enzima (Enzima), tempo de reação (Tempo) e temperatura de reação (Temperatura), as variáveis de resposta foram rendimento em óleo e carotenos totais.

Na Tabela 5 são apresentados os valores codificados e reais das variáveis do tratamento enzimático na etapa I.

O processo de extração utilizou 10 g de polpa + casca adicionado de água destilada em uma proporção de 1:1 (m/v), em um erlenmeyer de 125 mL. Em seguida, foi adicionada a enzima de acordo com a concentração estabelecida no DCCR. Essa mistura foi colocada em agitador orbital na rotação de 150 rpm nas condições de temperatura e tempo também definidos no planejamento. Para finalizar o processo, a solução foi inativada utilizando a temperatura de 75°C por 5 minutos. Finalizado o processo o sistema foi distribuído em tubos de ensaio que

foram centrifugados por 20 minutos a 4000xg, para a separação e obtenção das fases oleosa, aquosa e sólida.

Após a separação das fases, a fase oleosa foi coletada com auxílio de pipeta pasteur quantificada (massa) para o cálculo do rendimento da extração e encaminhada para análise de carotenos.

Tabela 5 – Planejamento experimental para extração enzimática.

Ensaio	Codificado			Temperatura (%)	Reais	
	X1	X2	X3		Enzima (% m/v)	Tempo (hora)
1	-1	-1	-1	35	2	1
2	-1	-1	1	35	2	3
3	-1	1	-1	35	4	1
4	-1	1	1	35	4	3
5	1	-1	-1	55	2	1
6	1	-1	1	55	2	3
7	1	1	-1	55	4	1
8	1	1	1	55	4	3
9	-1,68	0	0	28,18	3	2
10	1,68	0	0	61,82	3	2
11	0	-1,68	0	45	1,32	2
12	0	1,68	0	45	4,68	2
13	0	0	-1,68	45	3	0,32
14	0	0	1,68	45	3	3,68
15	0	0	0	45	3	2
16	0	0	0	45	3	2
17	0	0	0	45	3	2

X1: Temperatura de reação; X2: concentração de enzima; X3: Tempo de reação.

4.3.2.2 Etapa II

Nesta etapa optou-se por trabalhar com 50 g de amostra de polpa + casca de buriti para obter uma quantidade maior de óleo para as análises.

Foram avaliados novos parâmetros de rotação, pH e adição de enzimas, utilizando os valores de temperatura de 55 °C, concentração de enzima de 2 % e tempo de reação de 1 hora.

A relação massa de amostra/solução aquosa foi mantida 1:1 (m/v). Visando melhorar a eficiência das enzimas a mistura foi aquecido a 60 °C durante 30 minutos para facilitar a abertura dos poros presentes na amostra. Após esse tempo foi adicionada a enzima e a mistura foi introduzida no agitador orbital. Para finalizar o processo adotou-se o mesmo procedimento da etapa 1.

As enzimas utilizadas nesse processo foram a combinação de celulase e pectinase (1:1), nas condições de rotação de 125 ou 130 rpm, com ou sem tampão (Ácido acético – Acetato de sódio pH 5) e adicionadas de uma única vez logo após tratamento térmico ou separadas adicionando primeiramente a celulase após o tratamento térmico e 30 minutos depois adicionando a pectinase.

Com os resultados desta etapa selecionou-se a melhor condição de processo e enzima e procedeu-se um estudo sistemático para essa condição.

Processo de Extração com Celulase

Para avaliação do processo de extração enzimática da celulase, em escala maior, foi realizado um planejamento experimental fatorial completo 2^3 com 3 repetições no ponto central utilizando delineamento composto central rotacional (DCCR) combinado com a metodologia de superfície de resposta (MSR). As variáveis independentes foram concentração de enzima (Enzima), tempo de reação (Tempo) e temperatura de reação (Temperatura), as variáveis resposta foram rendimento e concentração de carotenos totais. A diluição da solução aquosa em relação a massa de amostra do fruto foi mantida fixa 1:1 (m:v).

Na Tabela 6 são apresentados os valores dos níveis das variáveis do tratamento enzimático para a celulase.

Tabela 6 - Níveis de variáveis para tratamento enzimático da celulase, etapa II.

Variáveis	- α	-1	0	1	+ α
(X1) T (°C)	41,6	45	50	55	58,4
(X2) [E] (% m/v)	0,66	1	1,5	2	2,34
(X3) t (h)	0,64	2	4	6	7,36

T: Temperatura de reação (°C); [E]: Porcentagem de enzima em relação a massa de fruto (% m/v); t: Tempo de reação (h).

O mesmo procedimento experimental adotado na etapa 2 foi utilizado nesta etapa.

4.3.2.3 Cinética de extração aquosa enzimática

A cinética de extração foi realizada para o ensaio que obteve os melhores resultados, ou seja, maior rendimento e maior concentração de carotenos na etapa II e para as combinações de enzimas Celulase: Pectinase (1:1) e Celulase: Pectinase: Alcalase (1:1:1)

A cinética foi determinada pelo acompanhamento do rendimento de óleo extraído das amostras até não haver variação entre a último e o penúltimo rendimento.

4.3.2.4 Cálculo de Eficiência das Extrações

O rendimento da extração do óleo de buriti foi calculada em porcentagem de acordo com a Equação 1.

$$\text{Rendimento}_{\text{óleo}} = \frac{\text{massa óleo (g)} / \text{massa de polpa (g)}}{\text{Teor total de óleo (g/g)}} \times 100 \quad \text{Eq. 1}$$

Onde, o teor total de óleo (%) é a relação entre massa de óleo (g) extraído pelo método Soxhlet e massa de polpa com casca de Buriti.

4.3.3 Compostos Antioxidantes do Óleo de Buriti

4.3.3.1 Carotenóides totais

O teor total de carotenoides foi determinado a partir do método espectrofotométrico de acordo com a metodologia descrita por França e Meireles (2000).

Onde total de carotenos foram calculados utilizando 10 mg de extrato diluindo com éter de petróleo (Chemco, Brasil, 30 - 65 °C) e lendo a absorbância a 453nm em espectrofotômetro.

Para o cálculo da concentração de caroteno construiu-se uma curva de calibração padrão (Apêndice 1), usando padrões de β -caroteno.

O teor de carotenoides totais foi determinado em $\mu\text{g/g}$ (Equação 2), utilizando como coeficientes de absorvidade ($E^{1\%1\text{cm}}$) 2592 para β -caroteno.

$$CT (\mu\text{g/g}) = \frac{A \times V_{(\text{mL})} \times 10^4}{E_{1\text{cm}}^{1\%} \times m_{(\text{g})}} \quad \text{Eq. 2}$$

V = volume do balão, em mL;

A = Absorbância;

$E_{1cm}^{1\%}$ = Coeficiente de extinção do carotenóide que está se quantificando em éter de petróleo. No caso do β -caroteno 2592;

m = massa de amostra, em g.

4.3.3.1 Extração de Fenóis

Foi realizada extração por solvente para determinar a concentração de fenóis totais no óleo. A amostra de óleo foi diluída em metanol 80% na diluição de 3/10 (g/mL) em erlenmeyer de 125 mL e colocado sob agitação (100 rpm) a temperatura de 50 °C durante 60 minutos. A amostra foi centrifugadas a 2012xg por 5 minutos e recolhido o sobrenadante. A fração metanólica recolhida foi lavada com 10 mL de hexano para remoção de interferentes lipídicos.

4.3.3.2 Fenóis Totais

A concentração de fenóis totais foi determinada pelo método de Folin-Ciocalteu descrito por Singleton & Rossi (1965). O método colorimétrico baseia-se na capacidade de redução do ácido fosfomolibdico e fosfotúngstico pelas hidroxilas dos fenóis produzindo uma coloração azul. 300 μ L de extrato metanólico foram adicionados ao tubo teste junto com 8,2 mL de água destilada e 0,5 mL de reagente Folin-Ciocalteu. Depois de 5 minutos, adicionou-se adicionado 1 mL de Na_2CO_3 a 10% (mg/mL), o tubo agitado e deixado em repouso por 60 minutos em ausência de luz. A curva de calibração (Apêndice 1) foi feita utilizando ácido gálico como padrão (Sigma-aldrich) dissolvido em metanol e o branco feito com todos os reagentes substituindo a amostra por água destilada. Os resultados foram expressos como μ g de equivalente ácido gálico/ g de amostra (μ gEAG/g).

4.3.4 Capacidade Antioxidante

4.3.4.1 Método ABTS

A quantificação da atividade antioxidante do óleo de buriti foi realizada baseada no método do radical ABTS conforme descrito por Rufino et al. (2007) com modificações de

Pellegrini et al. (2003), onde inicialmente os óleos são diluídos em n-hexano, dependendo da sua atividade presumida, neste caso foram diluídos 1 g de óleo em 10 mL de hexano.

Preparou-se o radical ABTS•+, a partir da reação de ABTS 7 mM com persulfato de potássio a 2,45 mM na obtenção da concentração final, mantido a temperatura ambiente e sob abrigo de luz durante 16 horas. Após esse tempo, a solução foi diluída em álcool etílico PA até a obtenção de uma solução com absorvância de 0,70 ($\pm 0,05$) a 734 nm.

Em ambiente escuro, transferiu-se uma alíquota de 30 μ L de cada diluição do extrato para reagirem com 3 mL de solução de ABTS, após a homogeneização, foi feita a leitura (734 nm) após 6 minutos da mistura e utilizando álcool etílico, como branco, para calibrar o espectrofotômetro.

Foram preparados os pontos para obtenção da curva de calibração do Trolox (Apêndice 1), quatro pontos foram preparados, sendo os volumes do radical de 0,5 mL; 2,5 mL; 5 mL, 7,5 mL e 10 mL, diluídos para 10 mL de álcool etílico e comparadas com o branco. Ainda utilizando esses volumes, preparou-se o extrato da amostra para reagirem com ABTS, sendo que os balões foram aqui, aferidos com água destilada.

Continuando a análise, plotou-se os dados em um gráfico de dispersão absorvância *versus* concentração em μ M de Trolox. Para calcular a atividade antioxidante, substituiu-se a equação da reta a absorvância equivalente a 1.000 μ M do padrão Trolox. O valor obtido para o termo x corresponde à diluição da amostra (mg/L) equivalente a 1.000 μ M de Trolox.

4.3.5 Análise Estatística

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e metodologia de superfície de resposta (MSR), quando necessário as medias foram submetidas ao Teste de Tukey, com auxílio do software STATISTICA 8.0®.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO – QUÍMICA DA MATÉRIA PRIMA

Os resultados obtidos nas determinações de composição centesimal da polpa com casca de buriti encontram-se na Tabela 7. A água é o componente majoritário ($65,02 \pm 1,14$ g/100g), o que é característico para a maioria das polpas de frutas, seguido dos teores de lipídeos, correspondendo a $9,36 \pm 0,23$ g/100g.

Tabela 7 – Composição centesimal da polpa com casca do fruto de buriti (g/100g, base úmida).

Determinações	Média \pm DP
Umidade	$65,02 \pm 1,14$
Lipídios	$9,36 \pm 0,23$
Proteínas	$1,36 \pm 0,07$
Cinzas	$0,76 \pm 0,02$
Carboidratos	23,50

Os teores de umidade, cinza, lipídeos, proteínas e carboidratos encontrados na polpa + casca de buriti apresentaram pequenas divergências em relação aos valores encontrados na literatura, podendo estar relacionadas às diferenças morfológicas e químicas entre as variedades (grau de maturação, origem dos frutos, teor de umidade dos frutos) (TAVARES et al, 2003).

5.2 RESULTADO EXPERIMENTAL DO TRATAMENTO ENZIMÁTICO

5.2.1 Etapa I

A Tabela 8 apresenta a matriz experimental do planejamento para as variáveis independentes do tratamento enzimático com os valores reais: Temperatura (X1), concentração de enzima (X3), tempo (X3) e as variáveis de resposta (Y), o rendimento de extração (%) e carotenos totais ($\mu\text{g } \beta\text{caroteno/g}$) para cada enzima.

Foi observado na matriz de experimentos (Tabela 8) que o ensaio 8, enzima celulase, obteve maior rendimento de extração de óleo com 95,91 % do teor total de óleo da polpa com casca de buriti a partir das condições operacionais: temperatura a 55°C , concentração de enzima a 4% e tempo de 3 horas. O menor valor de extração foi obtido no ensaio 1, enzima alcalase,

com valor de 41,34% do teor total de óleo da polpa com casca a partir das condições operacionais: temperatura a 35°C, concentração de enzima a 2% e tempo de 1 hora.

Moreau et al. (2004) obtiveram rendimento menor do que o encontrado neste estudo para extração de óleo do germe de milho, utilizando extrato enzimático celulase (Celluclast 1,5L), 81,5 % nas condições de operação: tempo de 20 h, sendo 4 h de incubação a 50 °C e 16 h de agitando a 65 °C, 8 % de concentração de enzima. Nas mesmas condições, para a enzima alcalase obtiveram um rendimento de 32,3 %, valor menor aos encontrados para todos os ensaios deste estudo.

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

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

Tabtabaei e Diosady (2013) na extração de óleo de farinha de mostarda amarela, obtiveram rendimento de 64,9 % usando a pectinex ultra SP-L como enzima, na temperatura de 42°C, concentração de enzima de 3 % e tempo de 3 horas. Esse rendimento foi semelhantes ao encontrado neste estudo para os ensaios 2, 8 e 9 com rendimentos de 64,65 %, 65,40 % e 65,51%, respectivamente.

O maior rendimento e concentração de carotenos totais foi no ensaio 8, tratamento enzimático com celulase, com 3028,10 µg βcaroteno/g (temperatura 55°C, 4% enzima e tempo 3 horas). O menor valor da concentração de carotenos totais do óleo de buriti foi obtido no ensaio 1, tratamento enzimático com pectinase, com valor de 1481,48 µg βcaroteno/g (temperatura 35°C, 2% enzima e tempo 1 hora).

Os ensaios do processo enzimático, para concentração de carotenos totais, tiveram valores superiores aos encontrados na literatura (CUNHA et al., 2012; RIBEIRO et al., 2012; FERREIRA et al., 2011; SILVA et al., 2009; DE ROSSO E MERCADANTE, 2007; ALBUQUERQUE et al., 2003).

Resultados e Discussão

Tabela 8 - Matriz experimental para tratamento enzimático na etapa I.

Ensaio	X1	X2	X3	Celulase		Pectinase		Alcalase	
				Rendimento (%)	Carotenos Totais	Rendimento (%)	Carotenos Totais	Rendimento (%)	Carotenos Totais
1	35	2	1	51,08	1791,06	53,64	1481,48	41,34	2134,36
2	35	2	3	65,47	2142,26	64,65	1939,24	56,06	2306,38
3	35	4	1	60,06	1880,14	55,65	1843,84	45,18	1943,68
4	35	4	3	76,77	2125,3	68,33	2086,4	57,07	2159,97
5	55	2	1	57,75	2240,05	52,82	2108,27	57,99	2236,18
6	55	2	3	84,02	2568,76	61,63	2261,14	60,64	2888,42
7	55	4	1	86,37	2535,62	53,44	2117,4	68,54	1988,37
8	55	4	3	95,91	3028,1	65,4	2481,59	69,31	2556,54
9	28,18	3	2	65,12	1950,9	65,51	2097,8	53,21	1967,05
10	61,82	3	2	87,09	2498,26	57,76	2421,24	70,58	1995,49
11	45	1,32	2	77,55	2091,58	67,81	1908,71	62,86	2041,7
12	45	4,68	2	82,52	2244,67	70,35	2578,61	65,57	1925,58
13	45	3	0,32	66,68	1988,17	52,34	1904,9	56,64	1947,38
14	45	3	3,68	88,5	2380,85	63,11	2122,6	66,66	2468,47
15	45	3	2	63,93	2696,4	58,63	2193,2	57,16	1902,99
16	45	3	2	61,23	2737,36	58,04	2204,9	58,82	1871,36
17	45	3	2	60,77	2782,14	56,94	2286,95	56,54	1964,45

X1: Temperatura (°C); X2: Concentração de enzima (% m/v); X3: Tempo (hora); Rendimento (%); Carotenos totais ($\mu\text{g } \beta\text{caroteno/g}$).

Nas Tabelas 9, 10 e 11 são apresentados os efeitos do rendimento e nas tabelas 12, 13 e 14 são apresentados os efeitos dos carotenos totais para tratamento enzimático com as enzimas celulase, pectinase e alcalase, respectivamente.

Tabela 9 - Coeficientes de regressão do rendimento utilizando a celulase.

Fator	Coeficientes de Regressão	Erro Puro	P	Limite de confiança 95%	Limite de confiança -95%
Média *	62,43	0,98	0,0002	58,20	66,66
(1) Temperatura (L)*	15,77	0,92	0,0034	11,79	19,74
(1) Temperatura (Q)*	7,00	1,02	0,0205	2,62	11,38
(2) % Enzima (L)*	10,14	0,92	0,0082	6,16	14,11
(2) % Enzima (Q)*	9,79	1,02	0,0106	5,41	14,17
(3) Tempo (L)*	15,18	0,92	0,0037	11,21	19,16
(3) Tempo (Q)*	8,06	1,02	0,0156	3,68	12,44
1 com 2*	5,06	1,21	0,0525	-0,13	10,25
1 com 3	1,18	1,21	0,4323	-4,02	6,37
2 com 3	-3,60	1,21	0,0963	-8,79	1,59

*Efeitos significativos a 5% de significância. (L) – Linear; (Q) – Quadrático.

A análise estatística dos efeitos (Tabela 9) mostrou que as variáveis foram significativas para o processo de extração aquosa enzimático utilizando a celulase, em nível de 5% de significância, com exceção das interações (1 com 3 e 2 com 3). O efeito mais significativo para o processo de extração foi a temperatura (L), seguido pelo tempo (L) que tiveram efeitos com sentido positivo indicando uma relação diretamente proporcional com o rendimento de extração, assim como temperatura (Q), tempo (Q), % enzima (L) e % enzima (Q). Najafian et al. (2009) e Santos e Ferrari (2005) observaram que aumentando a concentração de enzima aumenta o rendimento do óleo.

Na Tabela 10, análise estatística dos efeitos, mostrou que as variáveis temperatura (L), % enzima (L), % enzima (Q) e tempo (L) foram significativas para o rendimento no processo de extração aquosa enzimático utilizando a pectinase, em nível de 5% de significância. O efeito mais significativo para o processo de extração foi o Tempo (L). A temperatura (L) teve sentido negativo, ou seja, um aumento nesse fator acarreta uma diminuição no rendimento. Esse mesmo comportamento foi observado por Gai et al. (2013) na extração de óleo de semente de *Isatis indigotica*, segundo os autores o aumento da temperatura pode ter levado a inativação da enzima.

Tabela 10 - Coeficientes de regressão do rendimento utilizando a pectinase.

Fator	Coeficientes de Regressão	Erro Puro	P	Limite de confiança 95%	Limite de confiança -95%
Média *	58,11	0,50	0,0001	55,97	60,24
(1) Temperatura (L)*	-3,22	0,47	0,0202	-5,23	-1,22
(1) Temperatura (Q)	1,03	0,51	0,1812	-1,17	3,24
(2) % Enzima (L)*	2,10	0,47	0,0458	0,10	4,11
(2) % Enzima (Q)*	6,30	0,51	0,0066	4,09	8,50
(3) Tempo (L)*	9,16	0,47	0,0026	7,16	11,17
(3) Tempo (Q)	-1,73	0,51	0,0777	-3,94	0,48
1 com 2	-0,32	0,61	0,6469	-2,94	2,29
1 com 3	-0,73	0,61	0,3539	-3,35	1,89
2 com 3	1,20	0,61	0,1870	-1,42	3,82

*Efeitos significativos a 5% de significância. (L) – Linear; (Q) – Quadrático.

Tabela 11 - Coeficientes de regressão do rendimento utilizando a alcalase.

Fator	Coeficientes de Regressão	Erro Puro	P	Limite de confiança 95%	Limite de confiança -95%
Média *	57,89	0,68	0,0001	54,96	60,81
(1) Temperatura (L)*	12,60	0,64	0,0026	9,85	15,35
(1) Temperatura (Q)	0,49	0,70	0,5568	-2,53	3,52
(2) % Enzima (L)*	4,20	0,64	0,0224	1,45	6,94
(2) % Enzima (Q)	2,13	0,70	0,0938	-0,89	5,15
(3) Tempo (L)*	6,87	0,64	0,0085	4,12	9,61
(3) Tempo (Q)	0,32	0,70	0,6971	-2,71	3,34
1 com 2*	3,59	0,83	0,0500	0,00	7,18
1 com 3*	-5,80	0,83	0,0201	-9,39	-2,21
2 com 3	-1,18	0,83	0,2935	-4,77	2,41

*Efeitos significativos a 5% de significância. (L) – Linear; (Q) – Quadrático.

A análise estatística dos efeitos (Tabela 11) mostrou que as variáveis temperatura (L), % enzima (L), tempo (L) e as interações 1 com 2 e 1 com 3 foram significativas do processo de extração aquosa enzimático utilizando a alcalase, em nível de 5% de significância. O efeito mais significativo para o processo de extração foi a temperatura (L) que teve efeito positivo, assim como tempo (L) e % enzima (L).

Tabela 12 - Coeficientes de regressão dos carotenos totais utilizando a celulase.

Fator	Coeficientes de Regressão	Erro Puro	P	Limite de confiança 95%	Limite de confiança -95%
Média *	2730,28	24,71	0,0001	2623,96	2836,60
(1) Temperatura (L)*	491,23	23,21	0,0022	391,37	591,09
(1) Temperatura (Q)*	-305,93	25,54	0,0069	-415,84	-196,02
(2) % Enzima (L)*	158,82	23,21	0,0207	58,96	258,68
(2) % Enzima (Q)*	-345,85	25,54	0,0054	-455,76	-235,94
(3) Tempo (L)*	304,31	23,21	0,0058	204,45	404,17
(3) Tempo (Q)*	-334,26	25,54	0,0058	-444,17	-224,35
1 com 2*	170,70	30,32	0,0301	40,23	301,17
1 com 3	56,21	30,32	0,2050	-74,26	186,68
2 com 3	14,43	30,32	0,6811	-116,04	144,90

*Efeitos significativos a 5% de significância. (L) – Linear; (Q) – Quadrático.

A Tabela 12, análise estatística dos efeitos para os carotenos totais mostrou que as variáveis foram significativas do processo de extração aquosa enzimático utilizando a celulase, exceto as interações 1 com 3 e 2 com 3, em nível de 5% de significância. O efeito mais significativo para os carotenos foi a temperatura (L). A % enzima (L), temperatura (L) e tempo (L) tiveram sentido positivo indicando uma relação direta com os carotenos, ou seja, ao passar de um valor mínimo para o valor máximo, a resposta aumentou.

A Tabela 13, análise estatística dos efeitos mostrou que as variáveis temperatura (L), % enzima (L), tempo (L) e tempo (Q) foram significativas do processo de extração aquosa enzimático utilizando a pectinase (pectinex ultra SP-L), em nível de 5% de significância. O efeito mais significativo para o processo de extração foi o temperatura (L), que teve sentido positivo indicando uma relação direta com a concentração de carotenos totais, ou seja, ao passar de um valor mínimo para o valor máximo, a resposta aumentou.

Tabela 13 - Coeficientes de regressão dos carotenos totais utilizando a pectinase.

Fator	Coeficientes de Regressão	Erro Puro	P	Limite de confiança 95%	Limite de confiança -95%
Média *	2236,66	29,44	0,0002	2110,01	2363,32
(1) Temperatura (L)*	316,53	27,65	0,0075	197,58	435,49
(1) Temperatura (Q)	-35,23	30,43	0,3665	-166,16	95,70
(2) % Enzima (L)*	273,23	27,65	0,0101	154,28	392,19
(2) % Enzima (Q)	-46,45	30,43	0,2664	-177,38	84,48
(3) Tempo (L)*	231,90	27,65	0,0139	112,95	350,86
(3) Tempo (Q)*	-209,02	30,43	0,0205	-339,95	-78,09
1 com 2	-69,98	36,12	0,1923	-225,41	85,44
1 com 3	-45,82	36,12	0,3323	-201,24	109,60
2 com 3	-0,97	36,12	0,9811	-156,39	154,46

*Efeitos significativos a 5% de significância. (L) – Linear; (Q) – Quadrático.

Tabela 14 - Coeficientes de regressão dos carotenos totais utilizando a alcalase.

Fator	Coeficientes de Regressão	Erro Puro	P	Limite de confiança 95%	Limite de confiança -95%
Média *	1899,38	27,28	0,0002	1782,02	2016,74
(1) Temperatura (L)*	171,77	25,62	0,0215	61,55	282,00
(1) Temperatura (Q)*	141,72	28,20	0,0374	20,40	263,03
(2) % Enzima (L)*	-162,86	25,62	0,0239	-273,08	-52,64
(2) % Enzima (Q)*	143,39	28,20	0,0366	22,08	264,71
(3) Tempo (L)*	363,93	25,62	0,0049	253,71	474,16
(3) Tempo (Q)*	301,99	28,20	0,0086	180,67	423,30
1 com 2	-60,65	33,47	0,2117	-204,66	83,37
1 com 3*	208,02	33,47	0,0249	64,01	352,04
2 com 3	-9,95	33,47	0,7943	-153,96	134,07

*Efeitos significativos a 5% de significância. (L) – Linear; (Q) – Quadrático.

A Tabela 14, análise estatística dos efeitos mostrou que as variáveis foram significativas no processo de extração aquosa enzimático utilizando a alcalase, em nível de 5% de significância, com exceção das interações 1 com 2 e 2 com 3. O efeito mais significativo para o processo de extração foi o tempo (L). A % enzima (L) teve sentido negativo indicando uma relação inversa com a concentração de carotenos totais, ou seja, ao passar de um valor mínimo para o valor máximo, a resposta diminui.

Para avaliação da adequação do modelo da regressão aos pontos experimentais obtidos utilizou-se a análise de variância (ANOVA) apresentada nas Tabelas 15, 16 e 17 para o rendimento e nas Tabelas 18, 19 e 20 para os carotenos totais, utilizando as enzimas celulase, pectinase e alcalase, respectivamente.

A análise de variância foi realizada para todas as respostas (Tabelas 15, 16, 17, 18, 19 e 20) e verificou-se a significância da regressão e não significância da falta de ajuste em nível de 95% de confiança ($p < 0,05$). 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 para representar o mecanismo do processo aquoso enzimático de extração de óleo e de carotenos nas presentes condições.

Tabela 15 - Análise de variância do rendimento utilizando celulase.

ANOVA	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F cal	F tab	p
(1) Temperatura (L)*	847,96	1	847,96	291,17	5,12	0,0034
(1) Temperatura (Q)*	138,67	1	138,67	47,61		0,0204
(2) % Enzima (L)*	350,31	1	350,31	120,29		0,0082
(2) % Enzima (Q)*	270,40	1	270,40	92,85		0,0106
(3) Tempo (L)*	786,03	1	786,03	269,90		0,0037
(3) Tempo (Q)*	183,26	1	183,26	62,93		0,0155
1 com 2*	51,15	1	51,15	17,56		0,0525
Falta de Ajuste	370,40	7	52,69	18,09	19,37	0,0534
Erro Puro	5,82	2	2,91			
Total	2792,79	16				

*Efeitos significativos a 5% de significância.

O coeficiente de determinação (R^2) apresenta uma proporção de variância explicada pelo modelo de 86,53% dos resultados obtidos nos ensaios ($p < 0,05$), indicando que o rendimento da extração aquosa enzimática do óleo do buriti, utilizando a celulase, tem correlação com as variáveis independentes.

Tabela 16 - Análise de variância do rendimento utilizando pectinase.

ANOVA	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F cal	F tab	p
(1) Temperatura (L)*	35,51	1	35,51	47,92	4,75	0,0202
(2) % Enzima (L)*	15,08	1	15,08	20,35		0,0458
(2) % Enzima (Q)*	135,73	1	135,73	183,17		0,0054
(3) Tempo (L)*	286,62	1	286,62	386,80		0,0026
Falta de Ajuste	86,93	10	8,69	11,73	19,39	0,0811
Erro Puro	1,48	2	0,74			
Total	561,34	16				

*Efeitos significativos a 5% de significância.

O coeficiente de correlação (R^2) foi de 0,8425, indicando que o modelo explicou 84,25% da variação dos dados experimentais, utilizando a enzima pectinase.

Tabela 17 - Análise de variância do rendimento utilizando alcalase.

ANOVA	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F cal	F tab	p
(1) Temperatura (L)*	542,06	1	542,06	389,25	4,84	0,0026
(2) % Enzima (L)*	60,12	1	60,12	43,17		0,0224
(3) Tempo (L)*	160,96	1	160,96	115,58		0,0085
1 com 2*	25,78	1	25,78	18,51		0,0500
1 com 3*	67,18	1	67,18	48,24		0,0201
Falta de Ajuste	156,71	9	17,41	12,50	19,39	0,0729
Erro Puro	2,79	2	1,39			
Total	1015,59	16				

*Efeitos significativos a 5% de significância.

O coeficiente de determinação (R^2) apresenta uma proporção de variância explicada pelo modelo de 84,30% dos resultados obtidos nos ensaios, utilizando a enzima alcalase.

Tabela 18 - Análise de variância para os carotenos totais utilizando celulase.

ANOVA	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F cal	F tab	p
(1) Temperatura (L)*	823864	1	823863,98	447,98	5,12	0,0022
(1) Temperatura (Q)*	263777	1	263777,13	143,43		0,0069
(2) % Enzima (L)*	86120	1	86119,75	46,83		0,0207
(2) % Enzima (Q)*	337107	1	337107,18	183,30		0,0054
(3) Tempo (L)*	316174	1	316173,79	171,92		0,0058
(3) Tempo (Q)*	314900	1	314899,50	171,23		0,0058
1 com 2*	58276	1	58275,59	31,69		0,0301
Falta de Ajuste	158949	7	22706,99	12,35	19,35	0,0769
Erro Puro	3678	2	1839,06			
Total	2024606	16				

*Efeitos significativos a 5% de significância.

O coeficiente de correlação (R^2) foi de 0,9197, indicando que o modelo explicou 91,97% da variação dos dados experimentais, utilizando a enzima celulase.

Tabela 19 - Análise de variância dos carotenos totais utilizando pectinase.

ANOVA	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F cal	F tab	p
(1) Temperatura (L)*	342076	1	342075,9	131,0803	4,75	0,007543
(2) % Enzima (L)*	254889	1	254889,2	97,6712		0,010084
(3) Tempo (L)*	183610	1	183610,4	70,3578		0,013917
(3) Tempo (Q)*	118069	1	118069,3	45,2430		0,021396
Falta de Ajuste	197649	10	19764,9	7,5737	19,39	0,122188
Erro Puro	5219	2	2609,7			
Total	1101513	16				

*Efeitos significativos a 5% de significância.

O coeficiente de correlação (R^2) foi de 0,8158, indicando que o modelo explicou 81,58% da variação dos dados experimentais, utilizando a enzima pectinase.

Tabela 20 - Análise de variância dos carotenos totais utilizando alcalase.

ANOVA	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F cal	F tab	p
(1) Temperatura (L)*	100740	1	100739,96	44,96	5,12	0,0215
(1) Temperatura (Q)*	56602	1	56602,18	25,26		0,0374
(2) % Enzima (L)*	90556	1	90556,43	40,42		0,0239
(2) % Enzima (Q)*	57951	1	57951,22	25,86		0,0366
(3) Tempo (L)*	452198	1	452197,89	201,81		0,0049
(3) Tempo (Q)*	257022	1	257022,10	114,71		0,0086
1 com 3*	86547	1	86546,94	38,63		0,0249
Falta de Ajuste	236857	7	33836,67	15,10	19,35	0,0635
Erro Puro	4481	2	2240,66			
Total	1242718	16				

*Efeitos significativos a 5% de significância.

O coeficiente de correlação (R^2) foi de 0,8058, indicando que o modelo explicou 80,58% da variação dos dados experimentais, utilizado a enzima alcalase.

Foi gerado o modelo matemático utilizando os efeitos significativos como coeficientes, para cada planejamento, representados pelas Equações 3, 4, 5, 6, 7 e 8.

$$\text{Rendimento (celulase)} = 62,43 + 15,77.X1 + 7.(X1)^2 + 10,14.X2 + 9,79.(X2)^2 + 15,18.X3 + 8,06.(X3)^2 + 5,06.X1.X2 \quad \text{Eq. 3}$$

$$\text{Rendimento (pectinase)} = 58,11 - 3,22.X1 + 2,10.X2 + 6,30.X3 + 9,16.(X3)^2 \quad \text{Eq. 4}$$

$$\text{Rendimento (alcalase)} = 57,89 + 12,60.X1 + 4,20.X2 + 6,87.X3 - 5,80.X1.X3 \quad \text{Eq. 5}$$

$$\text{Carotenos Totais (celulase)} = 2730,28 + 491,23.X1 - 305,93.(X1)^2 + 158,82.X2 - 345,85.(X2)^2 + 304,31.X3 - 334,26.(X3)^2 + 3,59.X1.X2 + 170,7.X1.X2 \quad \text{Eq. 6}$$

$$\text{Carotenos Totais (pectinase)} = 2236,66 + 316,53.X1 + 273,23.X2 + 231,90.X3 - 209,02.(X3) \quad \text{Eq. 7}$$

$$\text{Carotenos Totais (alcalase)} = 1899,38 + 171,77.X1 + 141,72.(X1)^2 - 162,86.X2 + 143,39.(X2)^2 + 363,93.X3 + 301,99.(X3)^2 + 208,02.X1.X3 \quad \text{Eq. 8}$$

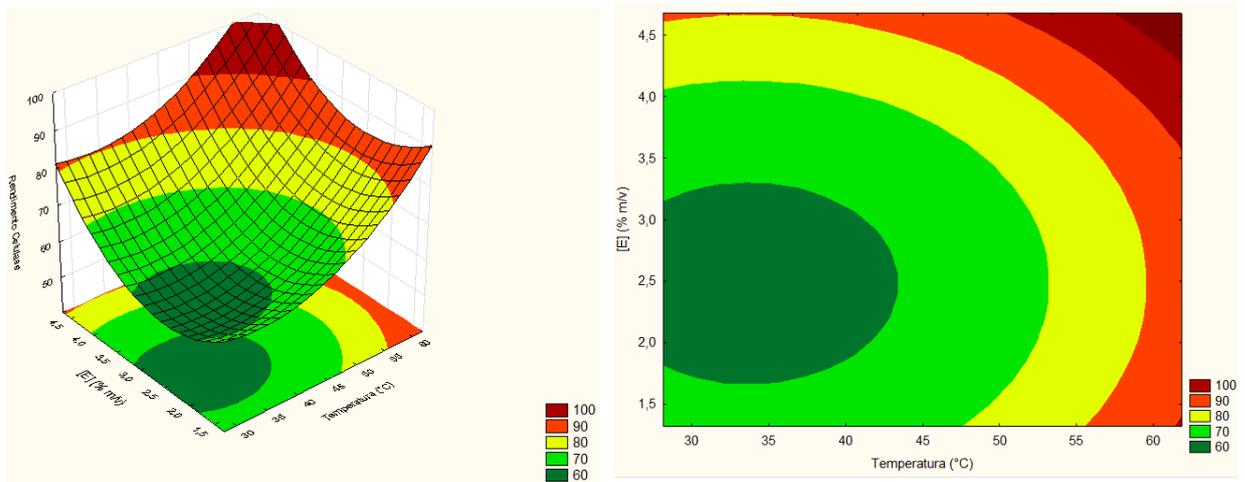
Onde:

X1 : temperatura (°C);

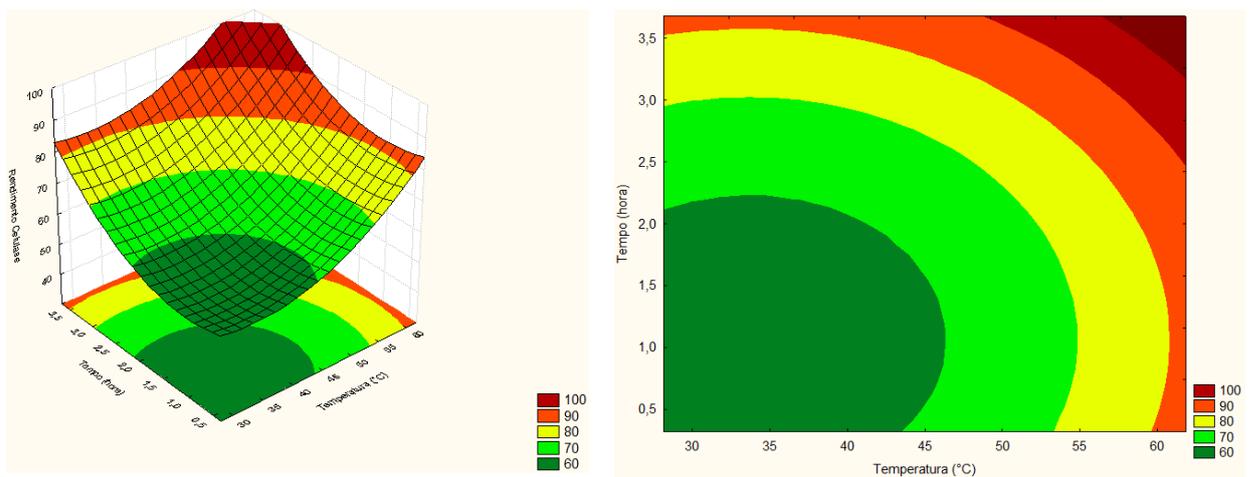
X2 : concentração de enzima (%);

X3 : tempo (h).

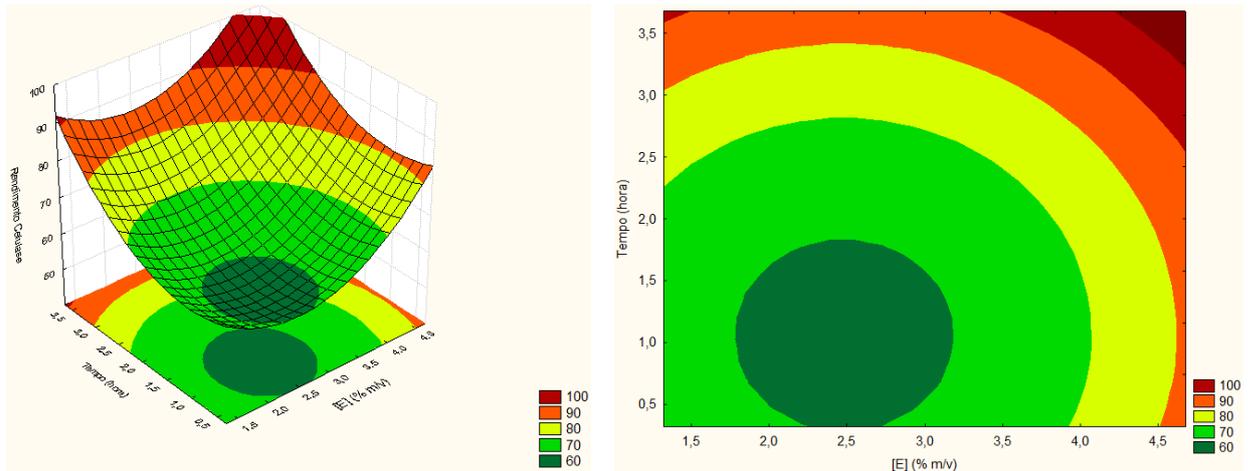
Nas Figuras 2, 3 e 4 são apresentadas as superfícies de resposta e as curvas de nível geradas através do modelo proposto para o rendimento da celulase, pectinase e alcalase, respectivamente, considerando-se os pontos médios do tempo, concentração de enzima e temperatura. Estas superfícies confirmam a análise dos efeitos realizados anteriormente e permitem visualizar a variação da resposta para cada parâmetro estudado.



(a)



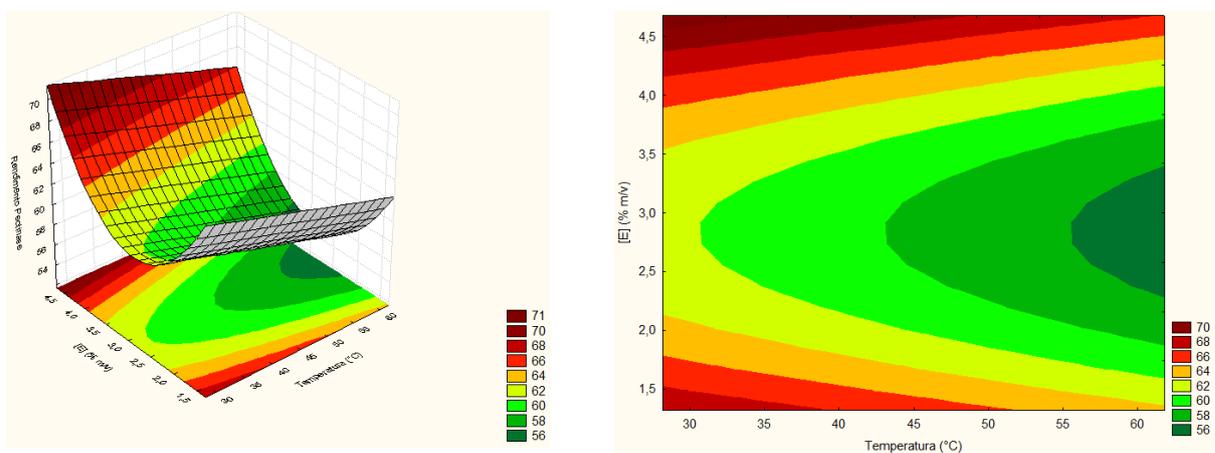
(b)



(c)

Figura 2 - Superfície de resposta e curva de contorno para efeito de (a) Concentração de Enzima com Temperatura; (b) Tempo com Temperatura; (c) Tempo com Concentração de enzima para rendimento de extração de óleo utilizando a celulase.

De acordo com as superfícies de resposta e com as curvas de contorno, Figura 2, houve um aumento do rendimento com aumento de temperatura e do tempo e que a região 3,7 a 4,68 % de concentração de enzima resultou também em um maior rendimento. Na Figura 6 (a) é possível verificar que os maior rendimento foram obtidos na faixa de temperatura de 53 a 61,82 °C e de concentração de enzima de 3,7 a 4,68 %. Na Figura (b) a faixa de temperatura 50 a 61,82 °C e do tempo 2,5 a 3,68 horas tiveram maiores rendimentos. Na Figura (c) as faixas de tempo 2,7 a 3,68 e a concentração de enzima de 3,5 a 4,68 % foram as que obtiveram melhores rendimentos. O melhor rendimento de extração do óleo de buriti, utilizando a celulase como enzima, seria alcançado utilizando as seguintes faixas de cada variável, temperatura de 53 a 61,82 °C, concentração de enzima de 3,7 a 4,68 % e tempo de 2,7 a 3,68 horas.



(a)

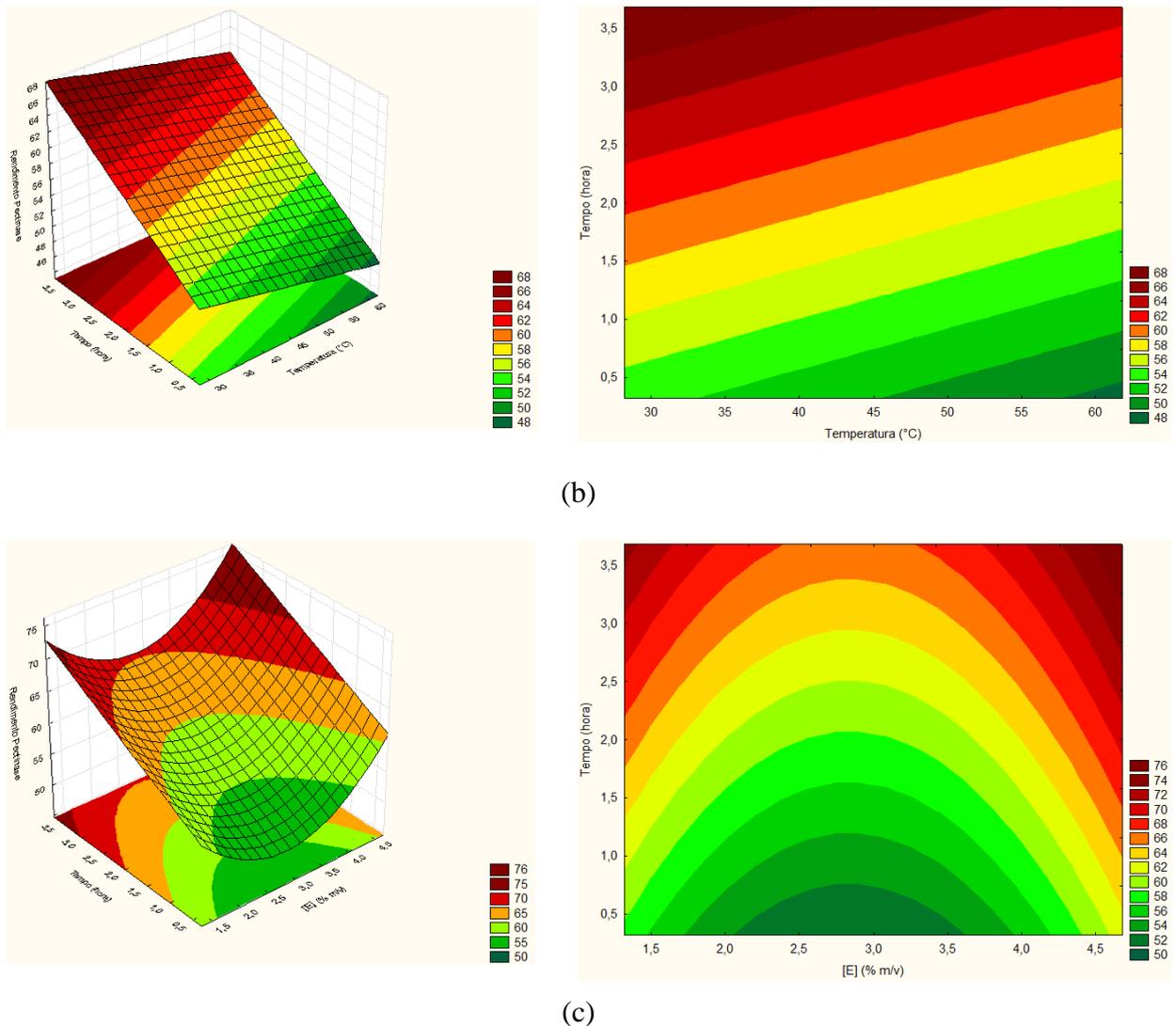


Figura 3 - Superfície de resposta e curva de contorno para efeito de (a) Concentração de Enzima com Temperatura; (b) Tempo com Temperatura; (c) Tempo com Concentração de enzima para rendimento de extração de óleo utilizando a pectinase.

Analisando a Figura 3, verificou-se que os parâmetros que exercem maior influência sobre o rendimento são o tempo e a concentração de enzima; a temperatura, no entanto, exerce efeito inverso no rendimento, ou seja, quanto maior a temperatura menor o rendimento, considerando uma mesma concentração de enzima. Verificou-se também que dentro da faixa de trabalho estudada, diminuindo a temperatura, e utilizando concentrações de enzima abaixo 1,5 % e acima de 4,4 %, no tempo de processo acima de 2,8 horas o rendimento terá seu valor máximo.

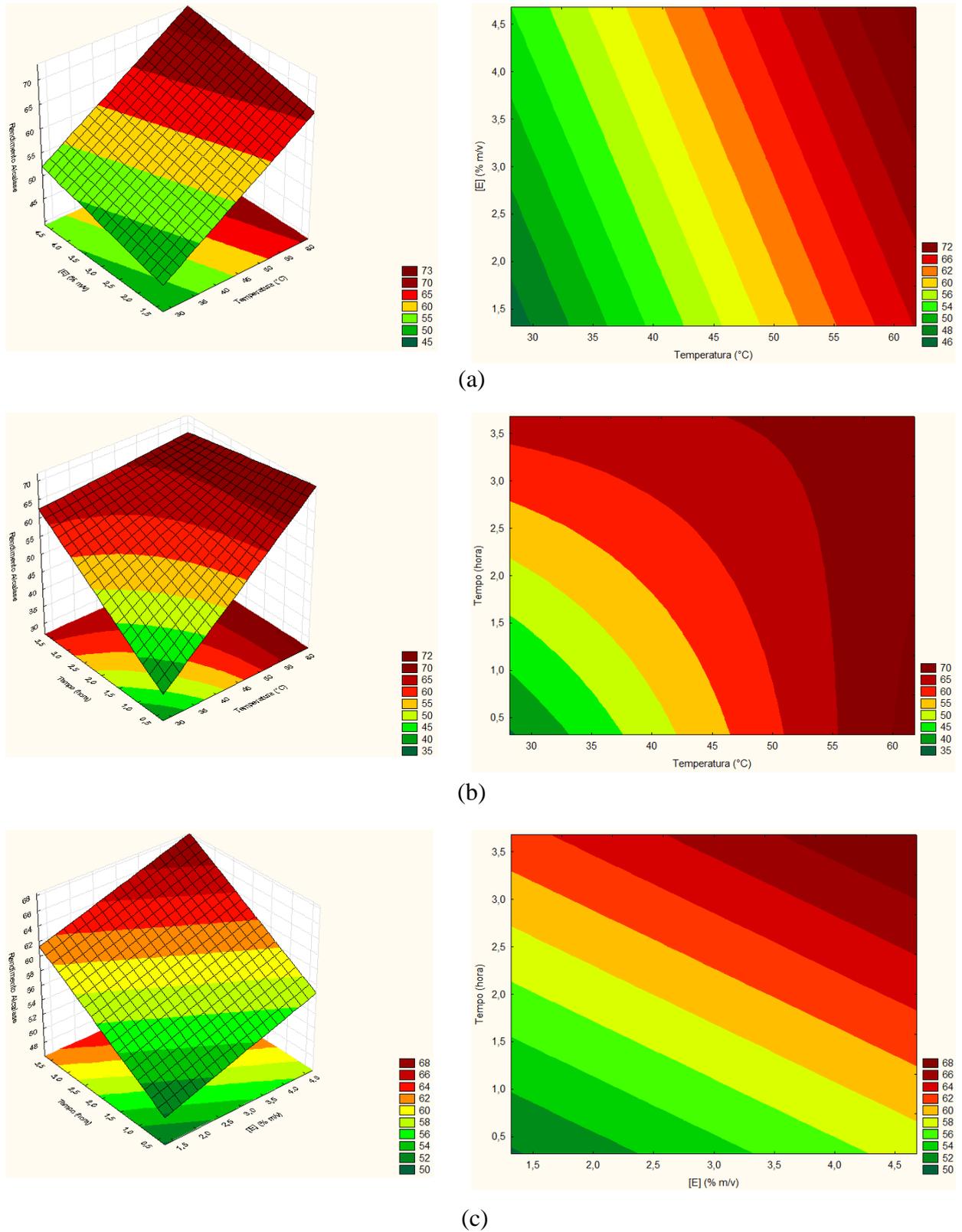
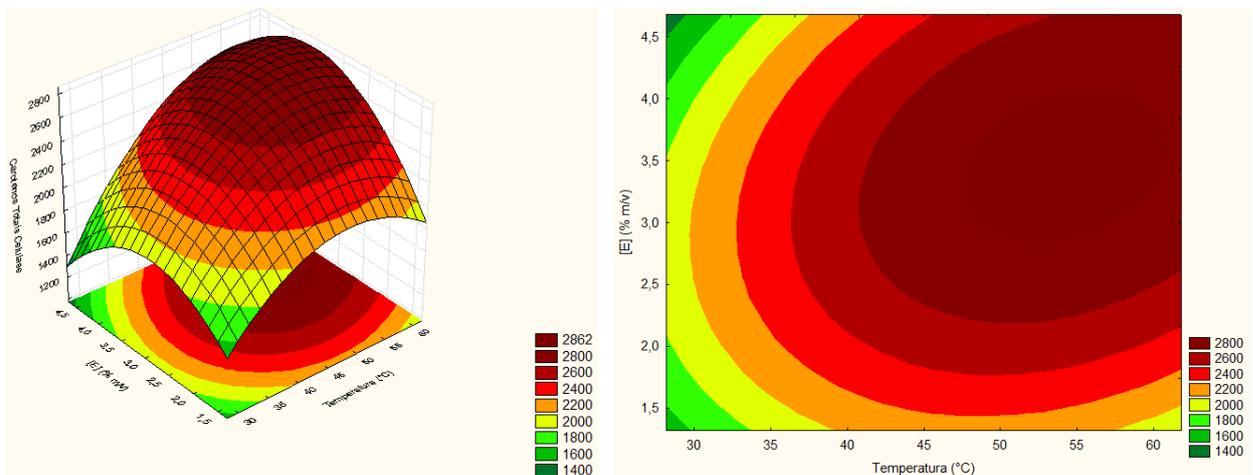


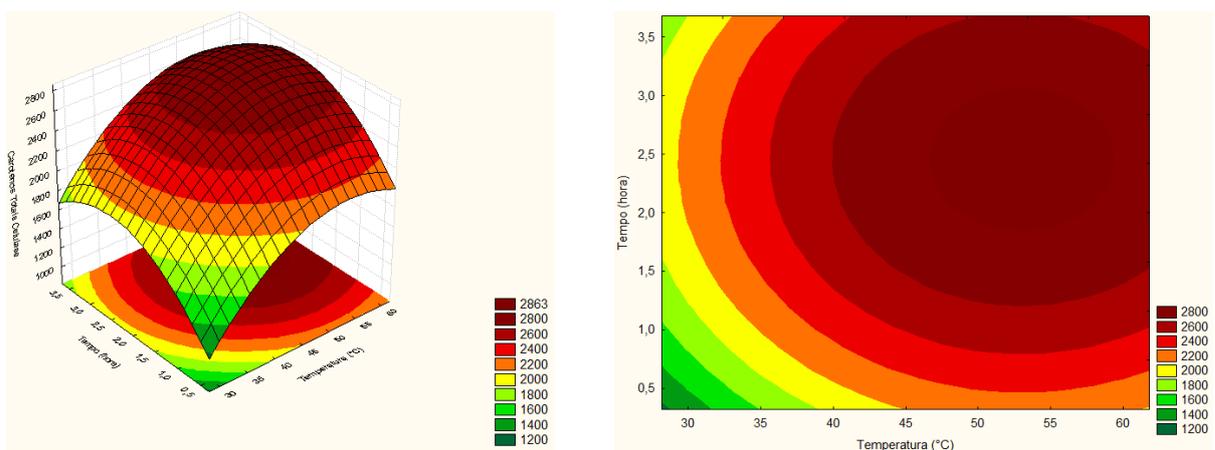
Figura 4 - Superfície de resposta e curva de contorno para efeito de (a) Concentração de Enzima com Temperatura; (b) Tempo com Temperatura; (c) Tempo com Concentração de enzima para rendimento de extração de óleo utilizando a alcalase.

Analisando a Figura 4, verificou-se que o parâmetro que exerce maior influência sobre o rendimento é a temperatura. Observa-se que rendimentos a baixo de 60 % são obtidos com temperaturas menores que 50 °C, a qualquer concentração de enzima e tempo menores do que 2,5 horas. Os maiores rendimentos são obtidos com temperaturas acima de 52 °C, concentrações de enzima acima de 2,8 % e tempo acima de 3,4 horas.

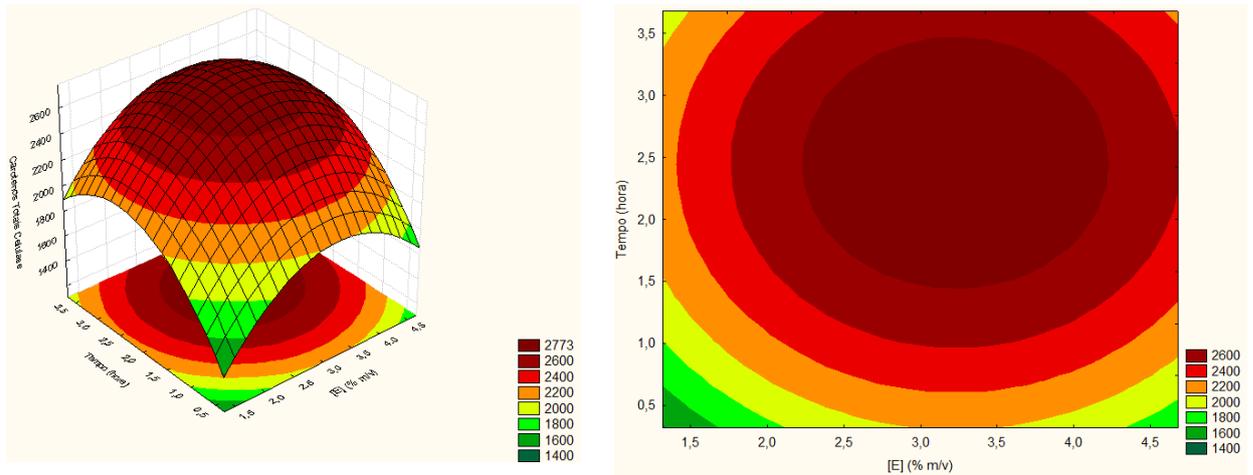
As superfícies de resposta e as curvas de contorno para os carotenos totais celulase, pectinase e alcalase, através do modelo proposto, considerando-se pontos médios de tempo, concentração e temperatura do processo, estão apresentadas nas Figuras 5, 6 e 7, respectivamente.



(a)



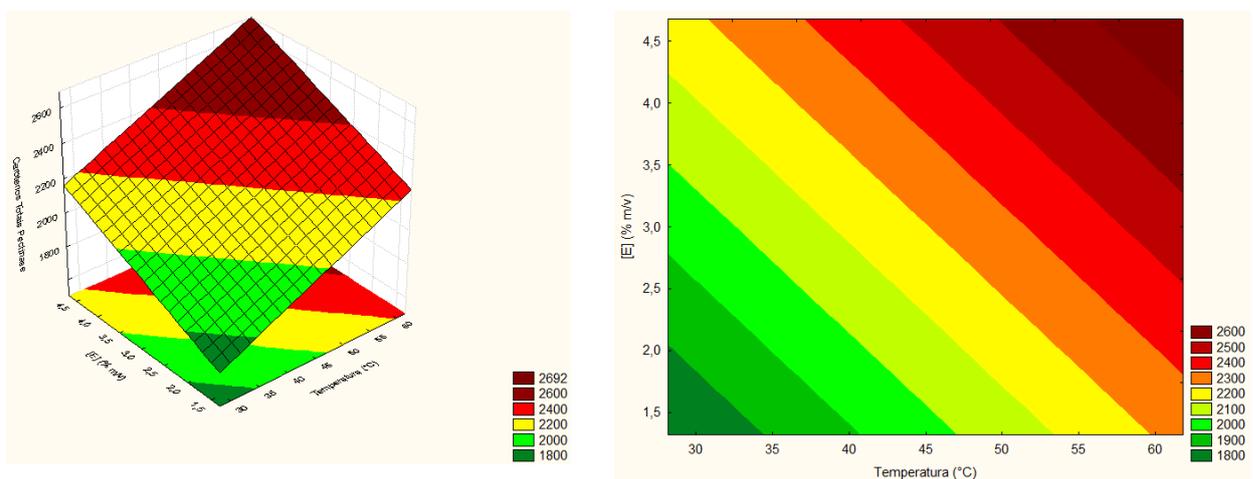
(b)



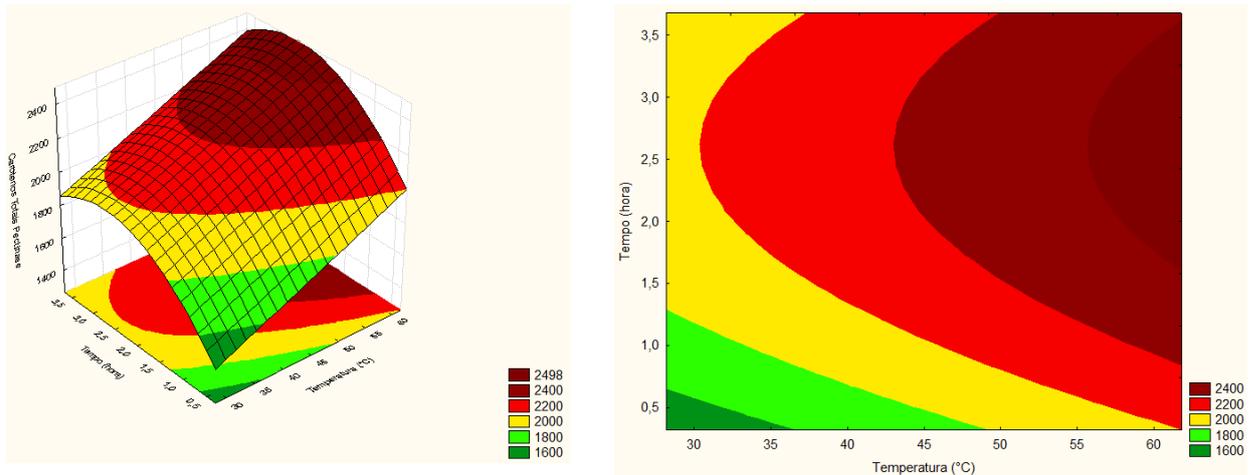
(c)

Figura 5 - Superfície de resposta e curva de contorno para efeito de (a) Concentração de Enzima com Temperatura; (b) Tempo com Temperatura; (c) Tempo com Concentração de enzima para carotenos totais utilizando a celulase.

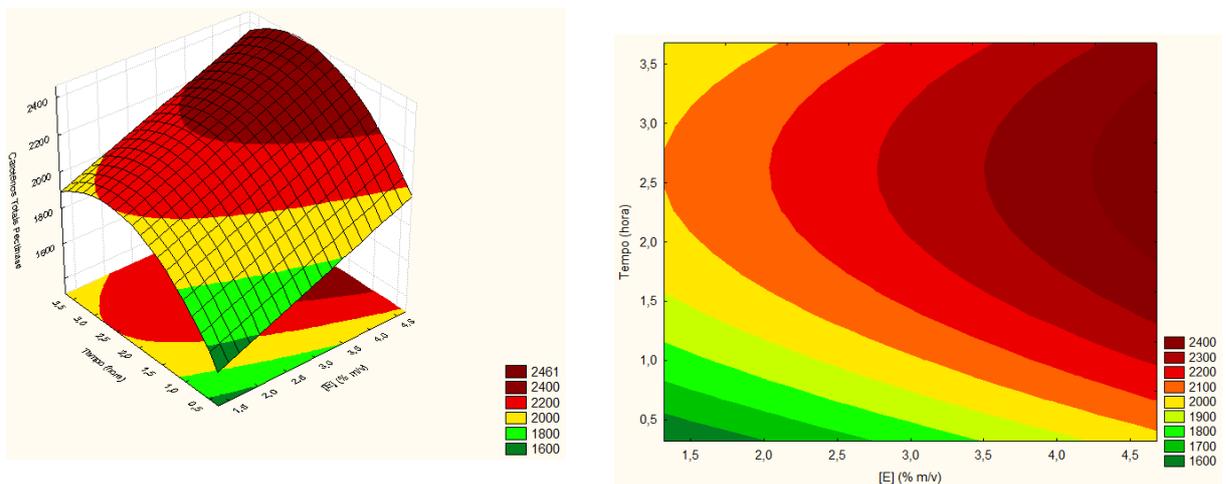
Através da Figuras 5, que representa as curvas e superfícies de resposta, observa-se um aumento dos carotenos totais com elevação dos parâmetros estudados, sendo a temperatura o parâmetro que exerce maior influência, conforme descrito anteriormente. A faixa 2,5 a 4,2 % de concentração de enzima, 1,6 a 3,3 horas de tempo e 43 a 61,82 °C de temperatura onde se encontra a maior concentração de carotenos.



(a)



(b)



(c)

Figura 6 - Superfície de resposta e curva de contorno para efeito de (a) Concentração de Enzima com Temperatura; (b) Tempo com Temperatura; (c) Tempo com Concentração de enzima para os carotenos totais utilizando a pectinase.

De acordo com as superfícies de resposta e com as curvas de contorno, Figura 6, houve um aumento do rendimento com aumento da temperatura, do tempo e da concentração de enzima. A melhor concentração de carotenos totais do óleo de buriti, utilizando a pectinase como enzima, é alcançado utilizando as seguintes faixas de cada variável, temperatura de 50 a 61,82 °C, concentração de enzima de 3,5 a 4,68 % e tempo de 1,4 a 3,68 horas.

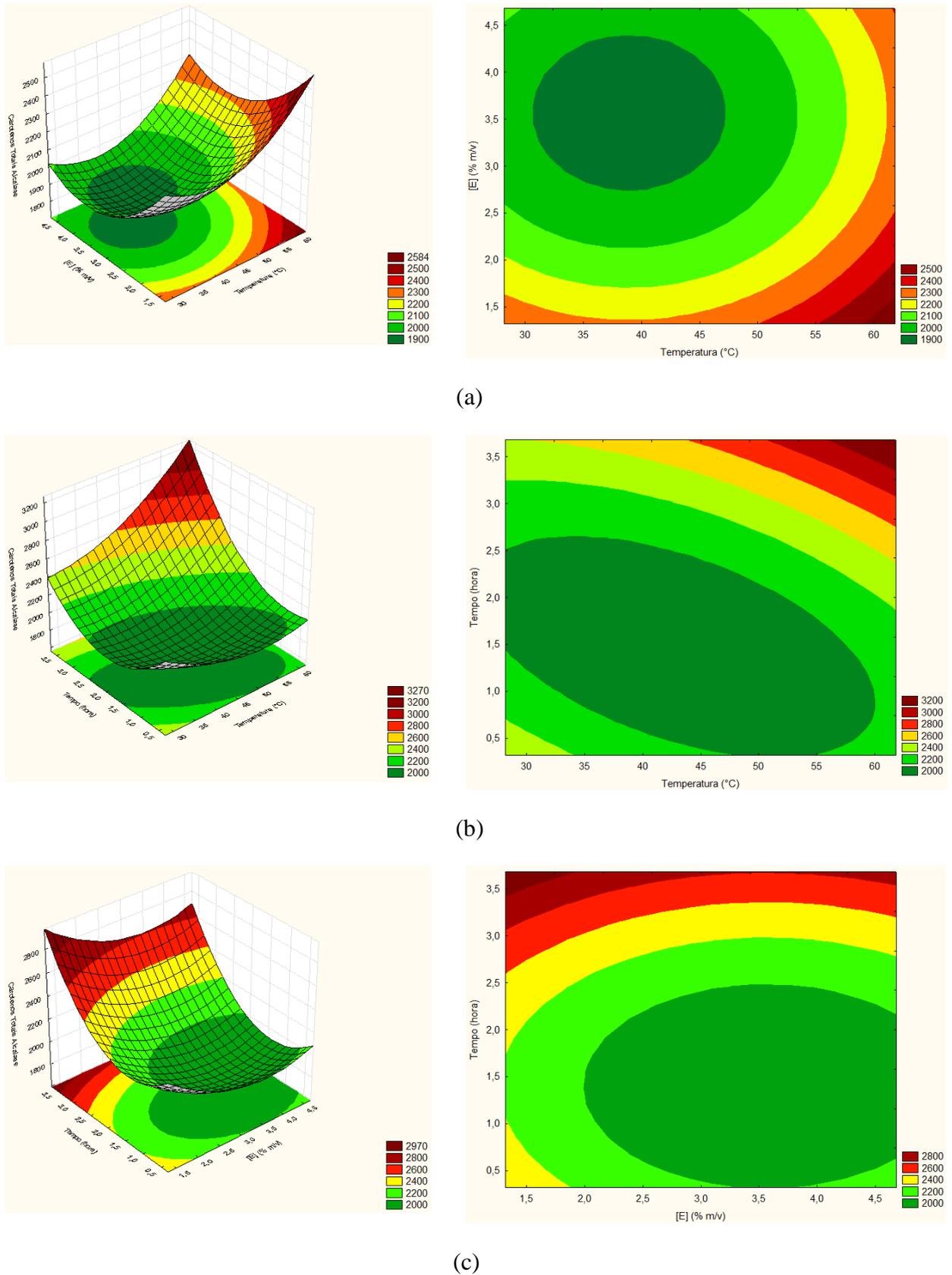


Figura 7 - Superfície de resposta e curva de contorno para efeito de (a) Concentração de Enzima com Temperatura; (b) Tempo com Temperatura; (c) Tempo com Concentração de enzima para os carotenos totais utilizando a alcalase.

Analisando a Figura 7, verificou-se que o parâmetro que exerce maior influência sobre a concentração de caroteno é o tempo. A concentração de enzima, no entanto, exerce efeito inverso com a concentração dos carotenos totais, ou seja, quanto menor a concentração de enzima maior a concentração dos carotenos. Assim, concentrações de enzima abaixo de 1,8%, tempo acima de 3,2 horas e temperatura acima de 56 °C dará os maiores valores de concentrações de carotenos totais.

5.2.2 Etapa II

Na Tabela 21 o ensaio que teve maior rendimento de extração foi o que as enzimas foram adicionadas juntas e sem tampão com rotação do agitador orbital de 130 rpm (43,95%), esse resultado não teve diferença significativa ao das enzimas separadas e sem tampão com rotação de 130 rpm. Santos e Ferrari (2005) no estudo de extração de óleo de soja, observou que ao adicionar duas enzimas juntas não teve efeito significativo sobre o rendimento e esse foi menor do que quando se usou apenas uma enzima (neste caso alcalase), mas ao adicionar as enzimas separadas em uma mesma amostra, cada uma na sua condição ótima (pH e temperatura), favoreceu o rendimento de extração.

Os ensaios realizados a 125 rpm tiveram resultados menores do que os realizados a 130 rpm, mostrando que a rotação do agitador orbital influencia no rendimento do processo. Sharma et al. (2002) extraiu óleo de amendoim, observou que a diminuição da agitação levou a diminuição da recuperação do óleo. Testes preliminares (escala maior, massa igual a 50 g) mostrou que rotações superiores a 130 rpm realizada nesse trabalho levou a formação de emulsão.

O tampão (Ácido acético – Acetato de sódio pH 5) influenciou de forma negativa, diminuindo o rendimento do processo.

Tabela 21 – Influência do tampão, rotação e das enzimas juntas ou separadas no rendimento de extração enzimática.

Ensaio	Rendimento (%) 130 rpm	Rendimento (%) 125 rpm
Juntas - Sem tampão	43,34 ± 0,55 ^a	29,48 ± 0,43 ^a
Juntas - Com tampão	35,96 ± 1,16 ^b	24,33 ± 0,86 ^b
Separadas - Sem tampão	43,28 ± 0,64 ^a	28,96 ± 0,19 ^a
Separadas - Com tampão	35,55 ± 0,60 ^b	20,61 ± 0,52 ^c

Médias seguidas de letra iguais, na mesma coluna, não são diferentes estatisticamente pelo Teste de Tukey a 5% de significância.

A Tabela 22, apresenta a matriz com os resultados experimentais para as variáveis de resposta, o rendimento de extração (%) e carotenos totais ($\mu\text{g } \beta\text{caroteno/g}$).

Tabela 22 - Matriz experimental para tratamento enzimático na etapa II.

Ensaio	X1 (°C)	X2 (%)	X3 (hora)	Rendimento (%)	Carotenos Totais
1	45	1	2	36,17	1733,54
2	45	1	6	54,84	1874,97
3	45	2	2	44,32	1955,98
4	45	2	6	71,66	2105,19
5	55	1	2	46,53	1784,34
6	55	1	6	67,60	1949,47
7	55	2	2	50,95	2985,98
8	55	2	6	76,50	3119,47
9	41,59	2	4	54,54	1754,72
10	58,41	2	4	58,41	2181,09
11	50	0,66	4	50,55	1753,82
12	50	2,34	4	65,52	2518,40
13	50	1,5	0,64	37,91	2017,55
14	50	1,5	7,36	74,87	2456,51
15	50	1,5	4	64,76	1999,08
16	50	1,5	4	62,81	1932,19
17	50	1,5	4	64,07	1992,21

X1: Temperatura (°C); X2: Concentração de enzima (% m/v); X3: Tempo (hora); Rendimento (%); Carotenos totais ($\mu\text{g } \beta\text{caroteno/g}$).

Observa-se que o rendimento máximo (76,5 %) e a maior concentração de carotenos totais (3119,47 $\mu\text{g } \beta\text{caroteno/g}$) foi obtido pelo ensaio 8 na temperatura de 55 °C, concentração de enzima de 2 % e tempo de extração de 6 horas. O menor valor de extração foi obtido pelo ensaio 1 com valor de 36,17 % e 1733,54 $\mu\text{g } \beta\text{caroteno/g}$ do valor total de óleo da polpa e dos carotenos totais, respectivamente, nas seguintes condições operacionais: 45 °C, concentração de enzima de 1 % e com tempo de 2 horas.

Li et al. (2011) extraiu óleo de germe de trigo, usando a celulase como extrato enzimático nas seguintes condições de operação: temperatura de 50 °C, concentração de enzima de 1,6 % e tempo de 6 horas, obtendo um rendimento de 55,04 % de óleo. Esse valor foi menor

do que encontrado ensaio 16 neste estudo que foi de 62,81 %, tendo quase as mesmas condições, a temperatura era mesma, a concentração de enzima era aproximada e tempo 4 horas.

Na extração de óleo da fruta de goldenberry, o rendimento foi de 30,5 % usando a celulase como enzima, na temperatura de 50°C, concentração de enzima de 2% e tempo de 2 horas. Os rendimentos encontrado neste estudo foram superiores a este em qualquer condição (RAMADAN; MOERSEL, 2009).

Tabtabaei e Diosady (2013) obtiveram um rendimento de 67,10 % de óleo de farinha de mostarda amarela, utilizando a celluclast, nas seguintes condições: temperatura de 42 °C, tempo de 3 horas e 3 % de concentração enzimática. Esse valor foi semelhante ao determinado no ensaio 12, com rendimento de 65,52 %.

Os ensaios 1, 5, 9 e 11 do processo enzimático, para concentração de carotenos totais, tiveram valores semelhantes ao Albuquerque et al. (2003), os demais ensaios tiveram valores superiores ao encontrados na literatura (CUNHA et al., 2012; RIBEIRO et al., 2012; DARNET et al., 2011; FERREIRA et al., 2011; SILVA et al., 2009; DE ROSSO E MERCADANTE, 2007).

Na Tabela 23 e 24 são apresentados os efeitos para tratamento enzimático para o rendimento e carotenos totais, respectivamente.

Tabela 23 - Coeficientes de regressão para o rendimento na etapa II.

Fator	Coeficientes de Regressão	Erro Puro	P	Limite de confiança 95%	Limite de confiança -95%
Média *	63,91	0,57	0,0001	61,45	66,37
(1) Temperatura (L)*	6,02	0,54	0,0078	1,80	6,42
(1) Temperatura (Q)*	-5,45	0,59	0,0115	-7,99	-2,91
(2) % Enzima (L)*	9,29	0,54	0,0033	6,99	11,60
(2) % Enzima (Q)*	-4,34	0,59	0,0179	-6,88	-1,81
(3) Tempo (L)*	22,67	0,54	0,0006	20,36	24,97
(3) Tempo (Q)*	-5,51	0,59	0,0113	-8,05	-2,97
1 com 2*	-2,91	0,70	0,0533	-5,92	0,10
1 com 3	0,15	0,70	0,8489	-2,86	3,16
2 com 3*	3,29	0,70	0,0425	0,27	6,30

*Efeitos significativos a 5% de significância. (L) – Linear; (Q) – Quadrático.

Na Tabela 23, análise estatística dos efeitos, mostrou que as variáveis foram significativas para o rendimento no processo de extração aquosa enzimático do óleo de buriti, exceto a interação 1 com 3, em nível de 5% de significância. O efeito mais significativo para o

processo de extração foi o tempo (L). O tempo (L), % enzima (L) e a temperatura (L) tiveram sentido positivo, ou seja, com aumento dessas variáveis houve um aumento do rendimento. Liu, Jiang e Li (2011) observou que com aumento do tempo ou da temperatura, a taxa de extração de óleo de semente de melancia aumentou.

Aumentando a concentração de enzima de 1 (-) para 2 (+), em uma mesma temperatura e mesmo tempo, houve um aumento do rendimento. Gai et al. (2013) extraiu óleo de semente de *Isatis indigotica*, observou que a concentração de enzima mais elevada foi favorável para extração de óleo em termos de maior rendimento. Teixeira et al. (2013) observaram esse mesmo comportamento na extração de óleo de palma.

A Tabela 24, análise estatística dos efeitos mostrou que as variáveis foram significativas do processo de extração aquosa enzimático, em nível de 5% de significância, com exceção da temperatura (Q) e das interações 1 com 3 e 2 com 3. O efeito mais significativo para o processo de extração foi o % enzima (L). As variáveis tiveram um efeito com sentido positivo indicando uma relação diretamente proporcional com a concentração de carotenos totais.

Tabela 24 - Coeficientes de regressão para os carotenos totais na etapa II.

Fator	Coeficientes de Regressão	Erro Puro	P	Limite de confiança 95%	Limite de confiança -95%
Média *	1970,21	21,20	0,0001	1878,98	2061,44
(1) Temperatura (L)*	422,74	19,91	0,0022	337,06	508,43
(1) Temperatura (Q)	24,87	21,92	0,3742	-69,44	119,18
(2) % Enzima (L)*	601,92	19,91	0,0011	516,24	687,61
(2) % Enzima (Q)*	143,80	21,92	0,0225	49,50	238,11
(3) Tempo (L)*	194,41	19,91	0,0103	108,72	280,09
(3) Tempo (Q)*	215,17	21,92	0,0102	120,86	309,48
1 com 2*	479,75	26,02	0,0029	367,79	591,70
1 com 3	2,00	26,02	0,9457	-109,95	113,95
2 com 3	-5,97	26,02	0,8400	-117,92	105,99

*Efeitos significativos a 5% de significância. (L) – Linear; (Q) – Quadrático.

Para avaliação da adequação do modelo da regressão aos pontos experimentais obtidos utiliza-se a análise de variância (ANOVA), apresentada nas Tabelas 25 e 26 para rendimento e carotenos totais, respectivamente.

A análise de variância (Tabela 25 e 26) foi realizada e verificou-se a significância da regressão e não significância da falta de ajuste no nível de 95% de confiança ($p < 0,05$).

Tabela 25 - Análise de variância do rendimento na etapa II.

ANOVA	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F cal	F tab	p
(1) Temperatura (L)*	123,77	1	123,77	126,19	5,12	0,0166
(1) Temperatura (Q)*	83,62	1	83,62	85,26		0,0115
(2) % Enzima (L)*	294,85	1	294,85	300,60		0,0033
(2) % Enzima (Q)*	53,20	1	53,20	54,24		0,0179
(3) Tempo (L)*	1754,19	1	1754,19	1788,44		0,0006
(3) Tempo (Q)*	85,47	1	85,47	87,14		0,0113
1 com 2*	16,93	1	16,93	17,66		0,0533
2 com 3*	21,60	1	21,60	22,02		0,0425
Falta de Ajuste	103,89	6	17,32	17,65	19,35	0,0546
Erro Puro	1,96	2	0,98			
Total	2392,77	16				

*Efeitos significativos a 5% de significância.

O coeficiente de correlação (R^2) foi de 0,9558, indicando que o modelo explicou 95,58 % da variação dos dados experimentais.

Tabela 26 - Análise de variância dos carotenos totais na etapa II.

ANOVA	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F cal	F tab	P
(1) Temperatura (L)*	610152	1	610152	450,62	4,97	0,0022
(2) % Enzima (L)*	1237004	1	1237004	913,57		0,0011
(2) % Enzima (Q)*	57498	1	57498	42,46		0,0227
(3) Tempo (L)*	129035	1	129035	95,30		0,0103
(3) Tempo (Q)*	133362	1	133362	98,49		0,0100
1 com 2*	460315	1	460315	339,96		0,0029
Falta de Ajuste	148329	8	18541	13,69	19,37	0,0698
Erro Puro	2708	2	1354			
Total	2746744	16				

*Efeitos significativos a 5% de significância.

O coeficiente de correlação (R^2) foi de 0,9450, indicando que o modelo explicou 94,50% da variação dos dados experimentais.

A partir desses parâmetros foi gerado o modelo matemático (Equações 9 e 10) utilizando os efeitos significativos como coeficientes.

$$\text{Rendimento (celulase)} = 63,91 + 6,02.X1 - 5,45.(X1)^2 + 9,29.X2 - 4,34.(X2)^2 + 22,67.X3 - 5,51.(X3)^2 + 3,29.X2.X3 \quad \text{Eq. 9}$$

$$\text{Carotenos Totais (celulase)} = 1970,21 + 422,74.X1 + 601,92.X2 + 143,80.(X2)^2 + 194,41.X3 + 215,17.(X3)^2 + 479,75.X1.X2 \quad \text{Eq. 10}$$

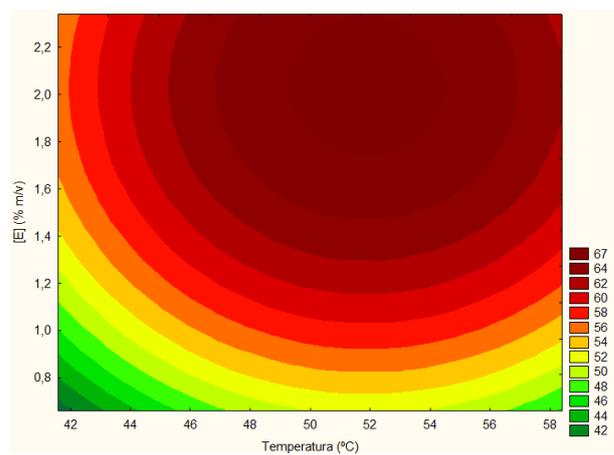
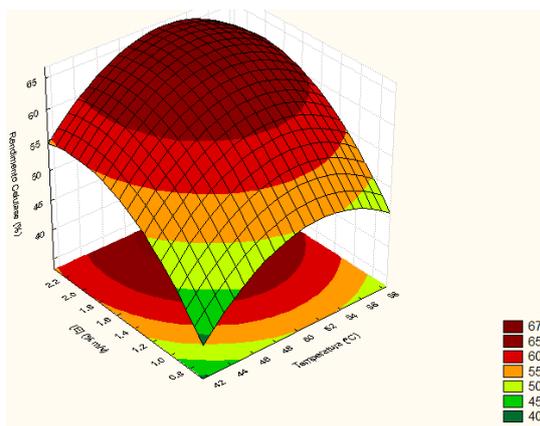
Onde:

X1 : temperatura (°C);

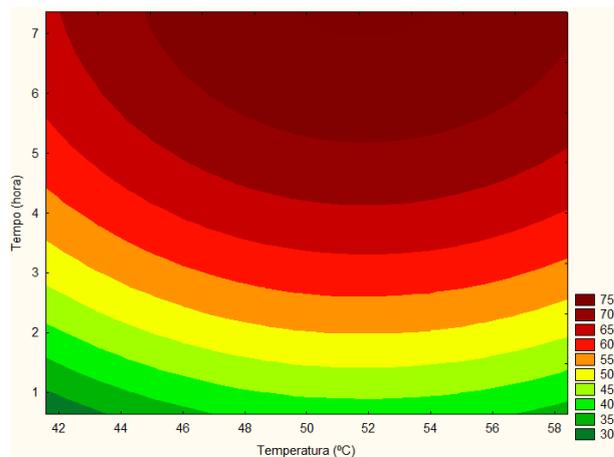
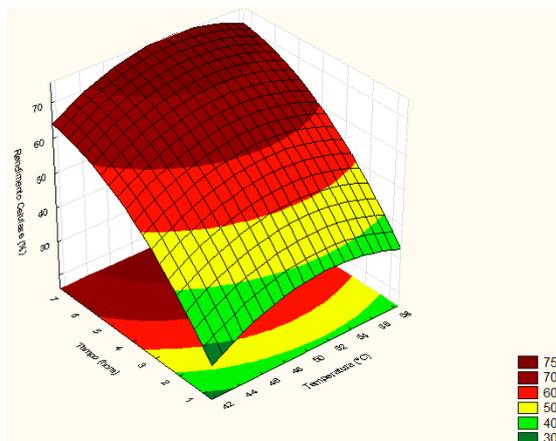
X2 : concentração de enzima (%);

X3 : tempo (h).

As superfícies de resposta e as curvas de contorno, através do modelo proposto, considerando-se pontos médios de tempo, concentração e temperatura do processo, estão apresentadas na Figura 8 para rendimento e na Figura 9 para os carotenos totais.



(a)



(b)

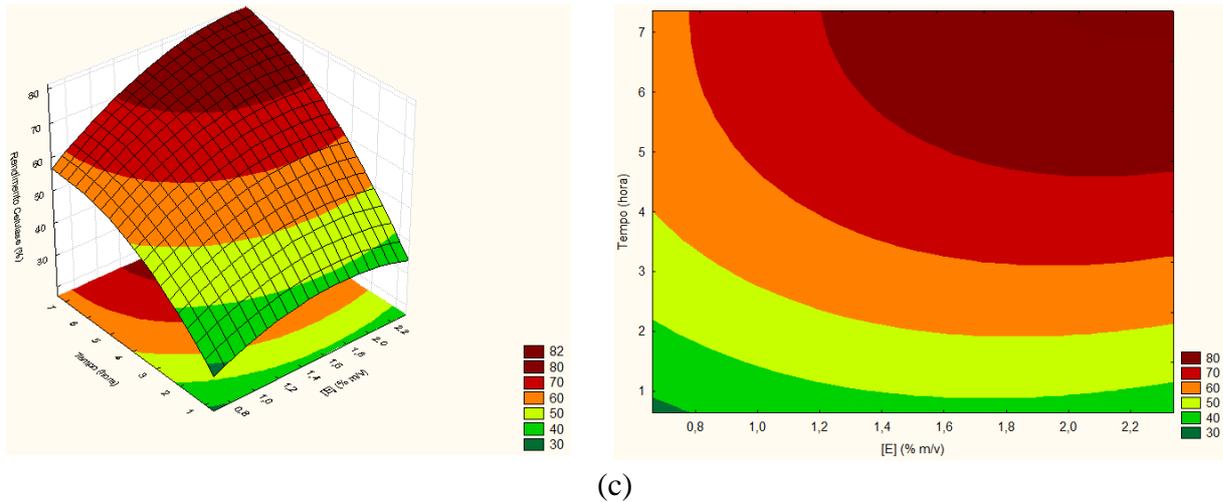
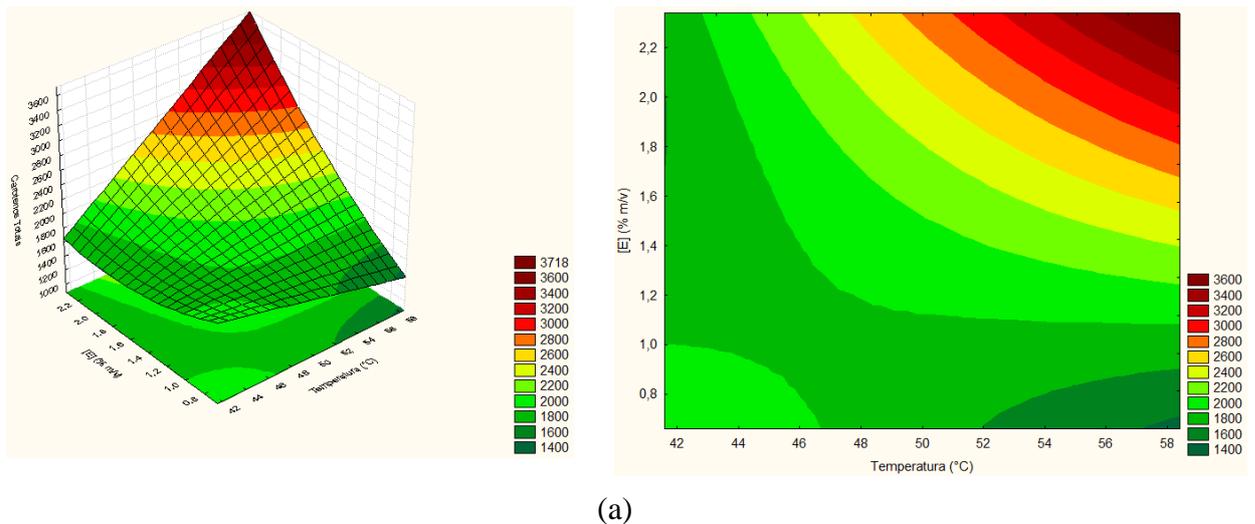


Figura 8 - Superfície de resposta e curva de contorno para efeito de (a) Concentração de Enzima com Temperatura; (b) Tempo com Temperatura; (c) Tempo com Concentração de enzima para o rendimento na etapa II.

De acordo com a Figura 8, as superfícies de resposta e com as curvas de contorno, houve um aumento do rendimento com aumento do tempo. Na Figura 12 (a) a faixa com maior rendimento é o que a concentração de enzima 1,5 a 2,34 %, temperatura 47 a 57 °C e com tempo de 4 horas. Figura 12 (b), com temperaturas superiores a 45 °C e tempo acima de 5,5 horas, os rendimentos serão em torno de 75 %. Rendimentos em torno de 80 % serão obtidos com tempo superior a 4,7 horas, uma concentração de enzima superior de 1,2 % e temperatura de 50 °C, Figura 12 (c).



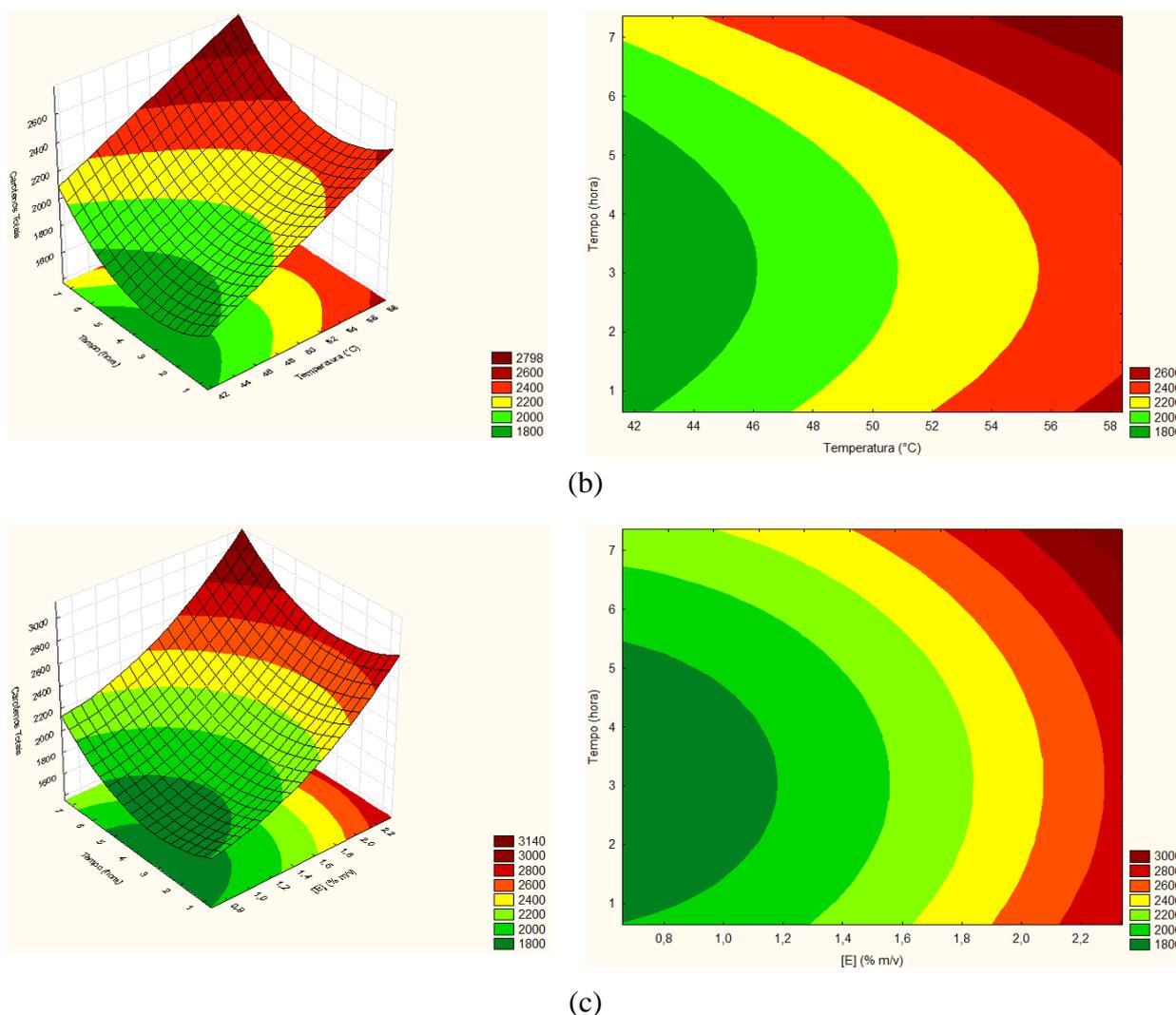


Figura 9 - Superfície de resposta e curva de contorno para efeito de (a) Concentração de Enzima com Temperatura; (b) Tempo com Temperatura; (c) Tempo com Concentração de enzima para os carotenos totais na etapa II.

Analisando a Figura 9, verificou-se que os parâmetros que exercem maior influência sobre o carotenos são concentração de enzima e temperatura. A melhor concentração de carotenos totais do óleo de buriti é alcançado utilizando as seguintes faixas de cada variável, temperatura de 52 a 58,41 °C, concentração de enzima de 1,8 a 2,34 % e tempo de 5 a 7,36 horas.

5.2.3 Cinética de extração aquosa enzimática

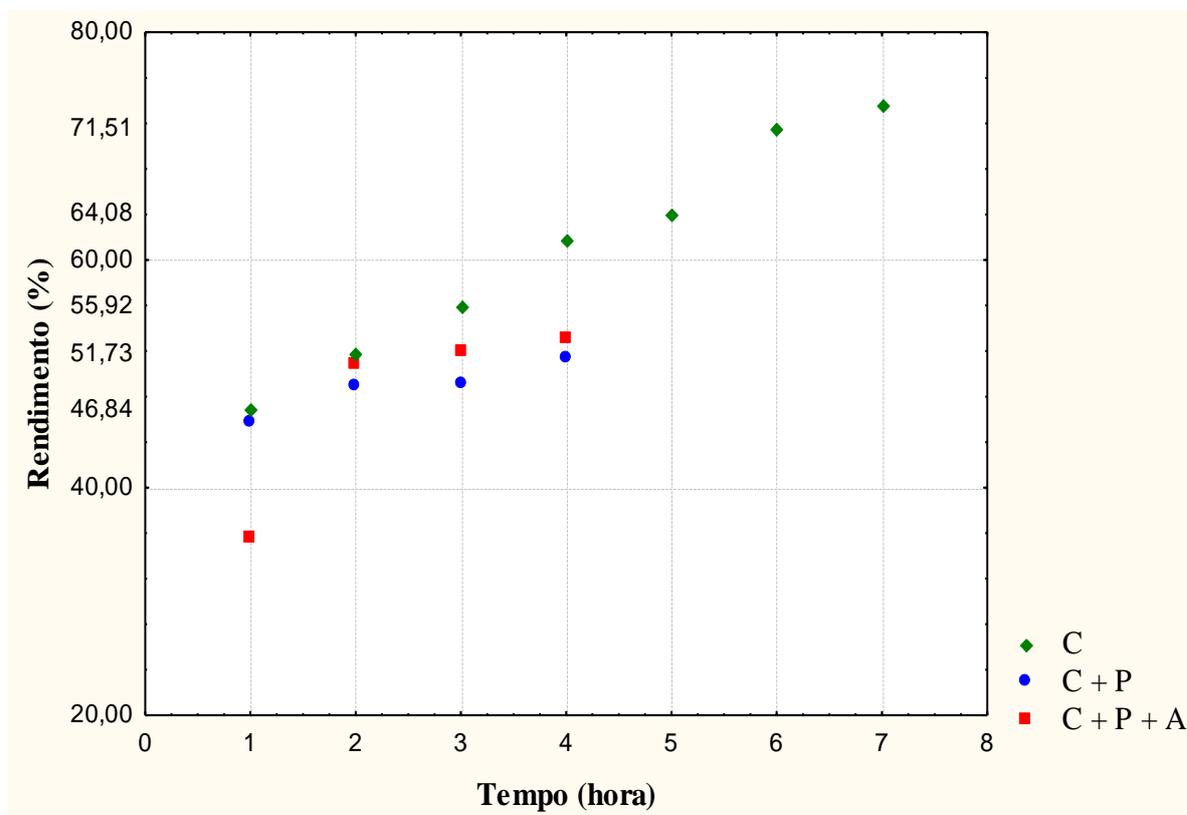
Na Tabela 27, mostra que o ensaio de 7 horas (celulase) foi o que obteve melhor rendimento de extração com 73,55 %. Observa se que o tempo influenciou significativamente (Figura 10), as cinéticas que utilizaram combinações de enzimas, apenas o tempo de 1 hora foi

diferente, a partir desse momento se manteve constante. Já para cinética que utilizou a celulase como enzima, somente a partir de 6 horas que se manteve constante.

Tabela 27 – Cinética de extração enzimática.

Ensaio	Rendimento (%) (C+P)	Rendimento (%) (C+P+A)	Rendimento (%) Celulase
1 hora	45,84 ± 1,7 ^b	35,72 ± 0,72 ^b	46,84 ± 1,96 ^d
2 horas	48,94 ± 1,41 ^{ab}	50,80 ± 0,67 ^a	51,73 ± 0,64 ^{cd}
3 horas	49,23 ± 0,99 ^{ab}	51,95 ± 1,01 ^a	55,92 ± 1,48 ^c
4 horas	51,38 ± 1,2 ^a	53,05 ± 1,04 ^a	61,78 ± 1,72 ^b
5 horas	-	-	64,08 ± 0,32 ^b
6 horas	-	-	71,51 ± 0,38 ^a
7 horas	-	-	73,55 ± 1,89 ^a

C+P: Celulase e pectinase; C+P+A: Celulase, pectinase e alcalase; Médias seguidas de letra iguais, na mesma coluna (letra minúscula), não são diferentes estatisticamente pelo Teste de Tukey a 5% de significância.



C: Celulase; C+P: Celulase e pectinase; C+P+A: Celulase, pectinase e alcalase.

Figura 10 - Cinética de extração enzimática.

Fazendo uma comparação entre as cinéticas em um mesmo tempo, pode se dizer que utilizando apenas a celulase o rendimento é maior do que a combinação de enzimas. Boulila et al. (2015) observou esse mesmo comportamento na extração de óleo de folha de louro, utilizando apenas a celulase, o rendimento foi maior do que usando combinação de enzimas (celulase, hemicelulase e xilanase). As enzimas tem a capacidade de degradar a estrutura da parede celular e despolimerizar polissacáridos da parede celular de plantas, facilitando a liberação do óleo (GIL-CHÁVEZ et al., 2013). No entanto, esta capacidade foi reduzida quando as enzimas foram combinadas e utilizadas em simultâneo, o que sugere uma adsorção competitiva aos polissacáridos da parede celular. Isto leva ao impedimento estérico de posições de enzima de ligação ao substrato, o que influencia negativamente a quebra de componentes de parede celular (HYUNH et al., 2014).

5.3 FENÓIS TOTAIS

Os valores médios de fenóis totais para as amostras de óleo de buriti estão representados na Tabela 28. O ensaio 14, com $253,72 \pm 4,97$ ($\mu\text{g EAG/g}$ óleo) obteve a maior quantidade de compostos fenólicos, nas condições: temperatura de 50°C , concentração de enzima de 1,5 % e tempo de 7,36 horas. Já o ensaio 9, foi o que apresentou menor valor de fenóis totais ($115,45 \pm 0,61$ $\mu\text{g EAG/g}$) nas condições: temperatura de $41,59^\circ\text{C}$, concentração de enzima 1,5 % e tempo de 4 horas.

Manhães e Sabaa-Srur (2011) determinaram compostos fenólicos para polpa de buriti com valor de $94,3$ $\mu\text{g EAG/g}$ polpa, este resultado foi menor do que o encontrado neste estudo para óleo de buriti, mostrando que há uma concentração desses compostos com processo de extração de óleo.

Ribeiro (2010) caracterizou o óleo de buriti, obteve um valor para compostos fenólicos de 303 $\mu\text{g EAG/g}$ óleo, valor esse maior do que encontrado nesse estudo.

Ezeh, Gordon e Niranjan (2016) extraíram óleo de nozes de tigre com pré-tratamento enzimático, com resultado de $17,9$ $\mu\text{g EAG/g}$ óleo de compostos fenólicos, resultado menor ao encontrado nesse estudo.

Jiao et al. (2014) utilizaram uma mistura de enzimas (celulase, pectinase e proteinase) para extração aquosa enzimática do óleo de semente de abóbora e verificaram que a extração enzimática ($128,84$ $\mu\text{gEAG/g}$ óleo) teve um efeito maior nos compostos fenólicos do que o soxhlet ($73,32$ $\mu\text{gEAG/g}$ óleo).

Latif e Anwar (2009) avaliaram os efeitos do tratamento com várias preparações enzimáticas para extração aquosa de óleo de girassol e analisaram os polifenóis totais para as amostras que apresentaram de 130 – 150 µg EAG/g óleo e 90 µg EAG/g óleo para a amostra controle.

Tabela 28 - Resultados para fenóis totais do óleo de buriti.

Ensaio	Temperatura (°C)	Concentração de Enzima (%)	Tempo (hora)	Fenóis Totais (µg EAG/g óleo)
1	45	1	2	162,31 ± 4,37
2	45	1	6	217,27 ± 3,65
3	45	2	2	197,69 ± 6,29
4	45	2	6	216,25 ± 8,33
5	55	1	2	205,70 ± 5,56
6	55	1	6	213,72 ± 4,06
7	55	2	2	187,39 ± 2,42
8	55	2	6	207,75 ± 5,31
9	41,59	1,5	4	115,45 ± 6,13
10	58,41	1,5	4	174,53 ± 1,01
11	50	0,66	4	165,41 ± 4,24
12	50	2,34	4	160,44 ± 2,26
13	50	1,5	0,64	207,63 ± 4,32
14	50	1,5	7,36	253,72 ± 4,97
15	50	1,5	4	231,32 ± 4,49
16	50	1,5	4	237,79 ± 4,13
17	50	1,5	4	227,09 ± 7,30

Mushtaq et al. (2015) extraíram óleo de casca de romã com fluido supercrítico assistida por enzima e observou que a concentração de compostos fenólicos foi maior quando comparada a extração sem enzimas.

Latif e Anwar (2011) avaliaram cinco enzimas (Protex 7L, Alcalase 2.4L, Viscozyme L, Natuzyme, e Kemzyme) para a analisar suas eficácias em extrair óleo de gergelim e analisaram os polifenóis totais para as amostras de óleo que apresentou 19 – 24 µg EAG/g óleo, valor esse maior do que o controle e o extraído por soxhlet, 18 e 17 µg EAG/g óleo, respectivamente.

De acordo com a literatura, a utilização de enzima no processo de extração, aumenta a concentração de polifenóis totais no óleo extraído.

Os compostos fenólicos têm recebido atenção nos últimos anos por sua atividade antioxidante, inibindo a peroxidação lipídica (MARFIL et al., 2011). Estes compostos desempenham um papel importante, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo (SOUZA et al., 2007).

5.4 CAPACIDADE ANTIOXIDANTE (ABTS)

As médias e desvios padrões para os dados da capacidade antioxidante por meio do ABTS•+ estão apresentadas na Tabela 29.

Tabela 29 - Resultados da capacidade antioxidante do óleo de buriti.

Ensaio	Temperatura (°C)	Concentração de Enzima (%)	Tempo (hora)	μmol Trolox / g óleo
1	45	1	2	164,48 ± 2,35
2	45	1	6	178,70 ± 2,29
3	45	2	2	163,88 ± 3,00
4	45	2	6	189,06 ± 2,73
5	55	1	2	186,85 ± 3,64
6	55	1	6	202,52 ± 1,40
7	55	2	2	175,32 ± 0,25
8	55	2	6	185,56 ± 0,17
9	41,59	1,5	4	174,14 ± 3,91
10	58,41	1,5	4	178,03 ± 1,46
11	50	0,66	4	178,31 ± 3,28
12	50	2,34	4	176,69 ± 2,64
13	50	1,5	0,64	176,56 ± 3,21
14	50	1,5	7,36	204,31 ± 2,71
15	50	1,5	4	213,98 ± 2,34
16	50	1,5	4	214,69 ± 2,40
17	50	1,5	4	217,97 ± 0,31

O ensaio 17, foi o que obteve maior potencial antioxidante com 217,97 ± 0,31 μmol Trolox/ g óleo nas condições: temperatura de 50 °C, concentração de enzima de 1,5% e tempo de 4 horas. Com 163,88 ± 3,00 μmol Trolox/ g óleo, o ensaio 3 foi o que obteve menor resultado

da capacidade antioxidante, seguintes condições: 45°C de temperatura, concentração de enzima de 2 % e tempo de 2 horas.

Com aumento na temperatura de 45 °C para 55 °C houve um aumento da capacidade antioxidante, o mesmo comportamento foi observado para o tempo quando passou de 2 horas para 6 horas. Quando se aumentou a concentração de enzima 1 % para 2 % houve a diminuição da capacidade antioxidante.

Luzia (2012) analisou sete espécies do cerrado brasileiro para extração de óleo de suas sementes e determinou a capacidade antioxidante desses óleos. O óleo da semente de buriti teve potencial antioxidante de 0,86 µmol Trolox/ g óleo. Esse resultado é inferior ao óleo extraído da polpa de buriti.

5.5 CORRELAÇÃO ENTRE FENÓIS TOTAIS E ABTS

A Figura 11 representa a correlação entre fenóis totais e ABTS do óleo de buriti.

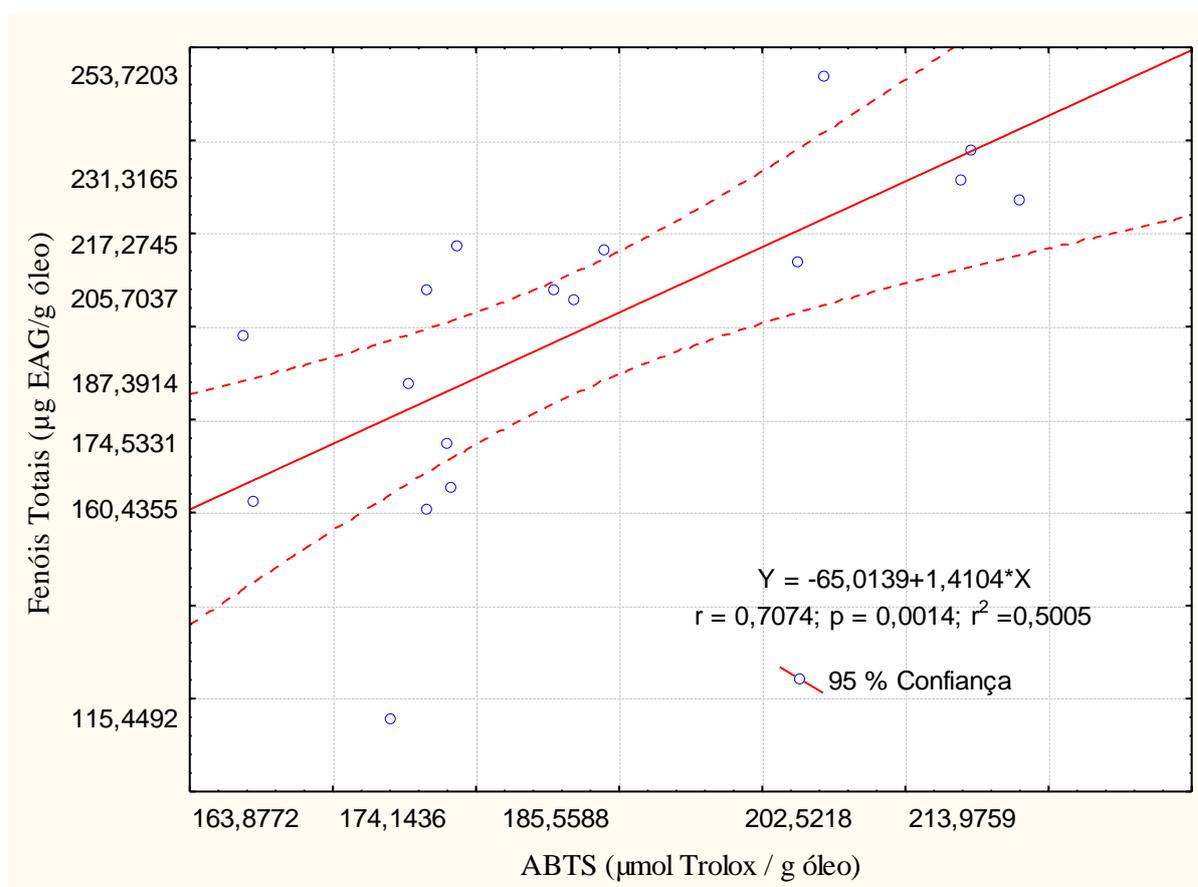


Figura 11 - Correlação entre Fenóis Totais e ABTS.

Quando são correlacionados os valores de todas as amostras, o valor de $r = 0,71$ com $p = 0,0014$ sendo estatisticamente significativa a correlação, com sentido positivo indicando

uma relação linear direta entre o conteúdo total de compostos fenólicos e a atividade antioxidante (ABTS); concluindo-se que óleo de buriti pode ser excelente fonte de compostos fenólicos com capacidades antioxidantes.

Estão disponíveis na literatura vários estudos que demonstram relação entre os teores de fenólicos totais e a atividade antioxidante (KAUR; KAPOOR, 2002; SUN et al., 2002; CHINNICI et al., 2004; ISMAIL; MARJAN; FOONG, 2004; SANTOS et al., 2008). Observa-se que vários fatores estão envolvidos no efeito antioxidante apresentado pelos fenólicos, tais como a estrutura química e composição dos fitoquímicos fenólicos bioativos, a posição e o número de hidroxilas presentes nas moléculas dos polifenóis, dentre outros (SHAHIDI; JANITHA; WANASUNDARA, 1992).

6 CONCLUSÃO

- Dentre as enzimas estudadas a celulase foi a que obteve os melhores resultados de rendimento de extração de óleo e maior concentração de carotenos totais. A temperatura foi a variável mais significativa, seguida do tempo. A análise de variância apresentou significância da regressão e não significância da falta de ajuste no nível de 95% de confiança ($p < 0,05$).
- Com aumento da escala, houve uma diminuição no rendimento de extração de óleo.
- Ao utilizar apenas uma enzima, neste caso a celulase, o rendimento foi maior do que se usar combinação de enzimas.
- A extração aquosa enzimática, gerou bons resultados de extração de óleo, sendo, portanto, uma metodologia viável. Além disso, os óleos extraídos apresentaram elevada concentração de carotenos totais, fenóis totais e capacidade antioxidante.
- Ao utilizar a celulase, escala maior, a melhor condição de extração com base no rendimento e nos compostos antioxidantes é o ensaio 14, com as condições operacionais: temperatura de 50 °C, concentração de enzima de 1,5 % e tempo de 7,36 horas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDEL-WAHAB, M.H.; EI-MAHDY, M.A.; ABD-ELLAH, M.F.; HELAL, G.K.; KHALIFA, F.; HAMADA, F.M.A. Influence of p-coumaric acid on doxorubicin-induced oxidative stress in rat's heart. **Pharmacological Research**, 48, 461–465, 2003.

ADLER-NISSEN, J. A review of food protein hydrolysis-specific areas. In: *Enzymic Hydrolysis of Food Proteins* (Adler-Nissen, J. Eds.). Elsevier Applied Science Publishers, London and New York, 78-79, 1986.

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

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

APARICIO-RUIZ, R.; MÍNGUEZ-MOSQUERA, I.; GANDUL-ROJAS, B. Thermal degradation kinetics of lutein, β -carotene and β -cryptoxanthin in virgin olive oils. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, p. 811-820, 2011.

AOAC; **Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemists**. 17th ed. Washington, 2002.

AQUINO, J. S.; PESSOA, D. C. N. P.; ARAÚJO, K. L. G. V.; EPAMINONDAS, P. S.; SCHULER, A. R. P.; SOUZA, A. G.; STAMFORD, T. L. M. Refining of Buriti Oil (*Mauritia flexuosa*) Originated from the Brazilian Cerrado: Physicochemical, Thermal-Oxidative and Nutritional Implications. **J. Braz. Chem. Soc.**, Vol. 23, No. 2, 212-219, 2012.

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**, 29 (1): 113-123, 2006.

BATAGLION, G. A.; SILVA, F. M. A.; EBERLIN, M. N.; KOOLEN, H. H. F. Simultaneous quantification of phenolic compounds in buriti fruit (*Mauritia flexuosa* L.f.) by ultra-high performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. **Food Research International**, 66, 396–400, 2014.

BEG, Q.K.,SAXENA, R.K.,GUPTA, R. De-repression and Subsequent induction of protease synthesis by *Bacillus mojavensis* under feed batch operations. **Process Biochemistry**, 78:289-295, 2002.

BOULILA, A.; HASSEN, I.; HAOUARI, L.; MEJRI, F.; AMOR, I. B.; CASABIANCA, H.; HOSNI, K. Enzyme-assisted extraction of bioactive compounds from bay leaves (*Laurus nobilis* L.). **Industrial Crops and Products**, 74, 485–493, 2015.

BRASIL. Ministério da saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), Resolução RDC n° 360, de 23 de dezembro de 2003. **Regulamento Técnico sobre Rotulagem**

Nutricional de Alimentos Embalados, tornando obrigatória a rotulagem nutricional. Brasília, DF, 2003.

CÂNDIDO, T. L.; SILVA, M. R.; AGOSTINI-COSTA, T. S.. Bioactive compounds and antioxidant capacity of buriti (*Mauritia flexuosa* L.f.) from the Cerrado and Amazon biomes. **Food Chem.**, 15; 177 : 313 – 9, 2015.

CARIS-VEYRAT, C. Antioxidant and prooxidant actions and stabilities of carotenoids *in vitro* and *in vivo* and carotenoid oxidation products. In: **Food colorants** – chemical and functional properties. C. Socaciu. CRC, New York, 177-192, 2008.

CARNEIRO, T.B.; CARNEIRO, J. G. M.. Frutos e Polpa Desidratada Buriti (*Mauritia flexuosa* L.): Aspectos Físicos, Químicos e Tecnológicos. **Revista Verde** (Mossoró – RN – Brasil) v.6, n.2, p. 105 – 111 abril/junho de 2011.

CASTELO-BRANCO, VN; TORRES, AG. Capacidade antioxidante total de óleos vegetais comestíveis: determinantes químicos e sua relação com a qualidade dos óleos. **Revista Nutrição**, 24 (1): 173-187, 2011.

CASTRO, A.M., PEREIRA JR., N. Produção, propriedades e aplicação de celulases na hidrólise de resíduos agroindustriais. **Quim. Nova**, 33:181-188, 2010.

CHABRAND, R. M.; KIM, H. J.; ZHANG, C. E.; JUNG, S. Destabilization of the emulsion formed during aqueous extraction of soybean oil. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 85, p. 383–390, 2008.

CHEN, BIH-KING; DIOSADY, L. L. Enzymatic Aqueous Processing of Coconuts. **International Journal of Applied Science and Engineering**, 1:55-61, 2003.

CHERRY, J. R.; FIDANTSEF, A. L. Directed evolution of industrial enzymes: an update. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 14, n. 4, p. 438–443, 2003.

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

CHEYNIER, V. Phenolic compounds: from plants to foods. **Phytochemistry Reviews**, v. 11, n. 2-3, p. 153–177, 2012.

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

CHINNICI, F.; BENDINI, A.; GAIANI, A.; RIPONI, C.. Radical scavenging activities of peels and pulps from cv. golden delicious apples as related to their phenolic composition. **J Agric Food Chem**, 52(15):4684-9, 2004.

COURI, S., PINTO, G.A.S., TERZI, S.C., DA COSTA, A.C.A., FREITAS, S.P. hydrolytic enzyme production in solid-state fermentation by *Aspergillus niger* 3T5B8. **Process Biochemistry**, v.36, p.255 - 261, 2000.

CUNHA, M. A. E.; NEVES, R. F.; SOUZA, J. N. S.; FRANÇA, L. F.; ARAUJO, M. E.; BRUNNER, G.; MACHADO, N. T. Supercritical adsorption of buriti oil (*Mauritia flexuosa* art.) in γ -alumina: A methodology for the enriching of anti-oxidants. **J. of Supercritical Fluids**, 66, 181–191, 2012.

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

DARNET, S. H.; SILVA, L. H. M.; RODRIGUES, A. M. C.; LINS, R. T. Nutritional composition, fatty acid and toopherol contents of buriti (*Mauritia flexuosa*) and patawa (*Oenocarpus bataua*) fruit pulp from the amazona region. **Ciênc. Tenol. Aliment.** v. 31, Campinas abr/jun. 2011.

DE 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, p. 5062-5072, 2007.

DELGADO, C.; COUTURIER, G.; MEJIA, K.. *Mauritia flexuosa* (Arecaceae: Calamoideae), an Amazonian palm with cultivation purposes in Peru. **Fruits**, 62, 157–169, 2007.

DELGADO-VARGAS, F., JIMENEZ, A. R.; PAREDES-LOPEZ, O. Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains - characteristics, biosynthesis, processing, and stability. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 40(3), 173-289, 2000.

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

EZEH, O.; GORDON, M. H.; NIRANJAN, K.. Enhancing the recovery of tiger nut (*Cyperus esculentus*) oil by mechanical pressing: Moisture content, particle size, high pressure and enzymatic pre-treatment effects. **Food Chemistry**, 194, 354–361, .2016.

FERREIRA, B.S.; ALMEIDA, C.G.; FAZA, L.P.; ALMEIDA, A.; DINIZ, C.G.; SILVA, V.L.; GRAZUL, R.M.; HYARIC, M. Comparative Properties of Amazonian Oils Obtained by Different Extraction Methods. **Molecules**, 16, 5875-5885, 2011.

FRANÇA, L. F.; MEIRELES, M. A. A.. Extraction of oil from pressed palm oil (*Elaes guineensis*) fibers using supercritical extraction CO₂. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 1997.

FRANÇA, L. F.; MEIRELES, M. A. A. Modeling the extraction of carotene and lipids from pressed palm oil (*Elaes guineensis*) fibers using supercritical CO₂. **Journal of Supercritical Fluids**, 18, 35–47, 2000.

FREITAS, S. P.; HARTMAN, L.; COURI, S. Alternativa biotecnológica ao uso de solventes orgânicos na extração de óleos vegetais. **Óleos e Grãos**, p. 29-32, set-out 1996.

FREITAS, S. P.; VASCONCELOS, C. C.; HAMACHER, M.S.; PINTO, G. S. Tecnologia enzimática para extracción simultanea del aceite e proteína del ajonjolí. **Alimentaria**, v. 339, p. 43-48, 2003.

GAI, Q.; JIAO J.; MU, P.; WANG, W.; LUO, M.; LI, C.; ZU, Y.; WEI, F.; FU, Y.. Microwave-assisted aqueous enzymatic extraction of oil from *Isatis indigotica* seeds and its evaluation of physicochemical properties, fatty acid compositions and antioxidant activities. **Industrial Crops and Products**, 45, 303– 311, 2013.

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

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

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

GOMES, C.A.O; PINTO, G.A.S; TERZI, S.C; FREITAS, S.P.; COURI, S. Aqueous enzymatic extraction of peach palm oil. **Brazilian Journal of Food Technology**., v.5, p.211-216, 2002.

GUNSTONE, F. D. Composition and Properties of Edible Oils. In: HAMM, W.; HAMILTON, R. J. e CALLIAUW, G. (Ed.). **Edible Oil Processing**: John Wiley & Sons, Ltd, cap. 1, p.1- 39, 2013.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free radicals in biology and medicine**. 4^a ed., Oxford University Press, New York, 2007.

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

HANMOUNGJAI, P.; PYLE, D. L.; NIRANJAN, K. Enzymatic process for extracting oil and protein from rice bran. **Journal of the American Oil Chemists' Society**. 78 (8): 817-821, 2001.

HYUNH, N. T., SMAGGHE, G., GONZALES, G. B., VAN CAMP, J., RAES, K.. Enzyme-assisted extraction enhancing the phenolic release from cauliflower (*Brassica oleracea* L. var. botrytis) outer leaves. **J. Agric. Food Chem.** 62, 7468–7476, 2014.

ISMAIL, A.; MARJAN, Z. M.; FOONG, C. W.. Total antioxidant activity and phenolic content in selected vegetables. **Food Chem**, 87(4):581-6, 2004.

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

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

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

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

KAUR, C.; KAPOOR, H. C.. Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. **Int J Food Sci Technol**, 37(2):153-61, 2002.

KIM, H. J.; PARK, W. S.; BAE, J. Y.; KANG, S. Y.; YANG, M. H.; LEE, S.; LEE, H. S.; KWAK, S. S.; AHN, M. J. Variations in the carotenoid and anthocyanin contents of Korean cultural varieties and home-processed sweet potatoes. **Journal of Food Composition and Analysis**. v.41. p.188-193. 2015.

KITTS, D. Toxicity and Safety of Fats and Oils In: HUI, Y.H. (Org.) **Bailey's Industrial Oil & Fat Products** 5^aed., v.1, New York, John Wiley & Son, p.215-280, 1996.

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

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

LATIF, S., & ANWAR, F.. Aqueous enzymatic sesame oil and protein extraction. **Food Chemistry**, 125, 679–684, 2011.

LATIF, S.; ANWAR, F. Effect of Aqueous Enzymatic Processes on Sunflower Oil Quality. **Journal of American Oil Chemist's Society**. v.86, p.393–400, 2009.

LATIF, S., DIOSADY, L. L., & ANWAR, F.. Enzyme-assisted aqueous extraction of oil and protein from canola (*Brassica napus* L.) seeds. **European Journal of Lipid Science and Technology**, 110, 887–892, 2008.

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

LI, J.; ZU, Y.; LUO, M.; GU, C.; ZHAO, C.; EFFERTH, T.; FU, Y.. Aqueous enzymatic process assisted by microwave extraction of oil from yellow horn (*Xanthoceras sorbifolia* Bunge.) seed kernels and its quality evaluation. **Food Chemistry**, 13,2152–2158, 2013.

LI, W.; QIU, Y.; PATTERSON C.A.; BETA, T. The analysis of phenolic constituents in glabrous canaryseed groats. **Food Chemistry** 127:10–20, 2011.

LIU, S.; JIANG, L.; LI, Y. Research of aqueous enzymatic extraction of watermelon seed Oil of ultrasonic pretreatment assisted. **Procedia Engineering**, 15, 4949 – 4955, 2011.

LORENZI, H.; BACHER, L.B. LACERDA, M.T.C.; SANTORI, S.F. **Frutas brasileiras e exóticas cultivadas**. São Paulo, Instituto Plantarum de Estudos de Flora Ltda. 2006.

LUZIA, D. M. M. Propriedades funcionais de óleos extraídos de sementes de frutos do cerrado brasileiro. 234 f. **Tese** (doutorado) – Universidade Estadual Paulista. Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto: [s.n.], 2012.

LUZIA, D. M. M.; JORGE, N. Study of antioxidant activity of non-conventional Brazilian fruits. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 6, p. 1167 – 1172, 2014.

MAEDA, R. N.; BARCELOS, C. A.; SANTA ANNA, L. M. M. ; PEREIRA JÚNIOR, 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.

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

MANHÃES, L. R. T. Avaliação do potencial nutricional, funcional e sensorial de óleo de buriti (*Mauritia Flexuosa*, Mart.). **Tese de Doutorado**. Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica - RJ, 2014.

MANHÃES, L.R.T.; SABAA-SRUR, A.U.O. Centesimal composition and bioactive compounds in fruits of buriti collected in Pará. **Cienc. Tecnol. de Aliment.**, v.31(4), p.856-863, Oct., 2011.

MANZI, M.; COOMES, O.T. Managing Amazonian palms for community use: A case of aguaje palm (*Mauritia flexuosa*) in Peru. **Forest Ecology and Management**. 257, 510–517, 2009.

MARFIL, R., GIMÉNEZ, R., MARTÍNEZ, O., BOUZAS, P. R., RUFÍAN-HENARES, J. A., MESÍAS, M., CABRERA-VIQUE, C.. Determination of polyphenols, tocopherols, and antioxidant capacity in virgin argan oil (*Argania spinosa*, Skeels). **European Journal of Lipid Science and Technology**, 113(7), 886–893, 2011.

MARIANO, R. G. B.; COURI, S.; FREITAS, S. P. Enzymatic technology to improve oil extraction from *Caryocar brasiliense* camb (pequi) pulp. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal - SP, v. 31, n. 3, p. 637-643, 2009.

MELO, K. S.; FIGUEIRÊDO, R. M. F.; QUEIROZ, A. J. M. Comportamento reológico da polpa do buriti com leite. **Rev. Biologia e Ciências da Terra**, v. 8, n.2, 2008.

MELO, W. S.; PENA, R. S.; RODRIGUES, A. M. C.; SILVA, L. H. M. Hygroscopic behavior of buriti (*Mauritia flexuosa*) fruit. **Cienc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 31(4): 935-940, out.-dez. 2011.

MOREAU, R. A.; JOHNSTON, D.B.; POWELL, M.J.; HICKS, K.B. A comparison of commercial enzymes for the aqueous enzymatic extraction of corn oil from corn germ. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 81 (11): 1071-1075, 2004.

MURAD, H. A.; AZZAZ, H. H. Microbial Pectinases and Ruminant Nutrition. **Research Journal of Microbiology**, v. 6, n. 3, p. 246–269, 2011.

MUSHTAQ, M.; SULTANA, B.; ANWAR, F.; ADNAN, A.; RIZVI, S. S. H.. Enzyme-assisted supercritical fluid extraction of phenolic antioxidants from pomegranate peel. **J. of Supercritical Fluids**, 104, 122–131, 2015.

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

NAJAFIAN, L.; GHODSVALI, A.; KHODAPARAST, M. H. H.; DIOSADY, L. L.. Aqueous extraction of virgin olive oil using industrial enzymes. **Food Research International**, 42, 171–175, 2009.

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

NASCIMENTO, R. J. S.; COURI, S.; ANTONIASSI, R.; FREITAS, S. P.. Composição em ácidos graxos do óleo da polpa de açaí extraído com enzimas e com hexano. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal - SP, v. 30, n. 2, p. 498-502, 2008.

NYAM, K. L., TAN, C. P., LAI, O. M., LONG, K., & MAN, Y. B. C.. Enzyme-assisted aqueous extraction of Kalahari melon seed oil: Optimization using response surface methodology. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 86, 1235–1240, 2009.

OGEDA, T. L.; PETRI, D. F. S. Hidrólise enzimática de biomassa. **Quim. Nova**, V.33, n. 7, p.1549-1558, 2010.

OZKAN, G.; BILEK, S. E.. Enzyme-assisted extraction of stabilized chlorophyll from spinach. **Food Chemistry**, 176, 152–157, 2015.

PASSOS, C. P., YILMAZ, S., SILVA, C. M., & COIMBRA, M. A.. Enhancement of grape seed oil extraction using a cell wall degrading enzyme cocktail. **Food Chemistry**, 115, 48–53, 2009.

PELLEGRINI, N.; SERAFINI, M.; COLOMBI, B.; DEL RIO, D.; SALVATORE, S.; BIANCHI, M.; BRIGHENTI, F. Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different *in vitro* assays. **The Journal of Nutrition**, v. 133, n. 9, p.2812 - 2819, 2003.

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

QUIRÓS, AR; COSTA HC. Analysis of carotenoids in vegetables and plasma samples: a review. **Journal of Food Composition and Analysis**, 19: 97:111, 2006.

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

RAMADAN1, M. F.; MOERSEL, J. T. Oil extractability from enzymatically treated goldenberry (*Physalis peruviana* L.) pomace: range of operational variables. **International Journal of Food Science and Technology**, 44, 435–444, 2009.

RANALLI, A., DE MATTIA, G.. Characterisation of olive oil produced with a new enzyme processing aid. **Journal of American Oil Chemist's Society**, 74, 1105–1113, 1997.

RAO, M.B., TANKSALE, A.M., GHATGE, M.S., DESHPANDE, V.V. Molecular and Biotechnological Aspects of Microbial Proteases. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**. 597-635, 1998.

RIBEIRO, B. D.; COELHO, M. A. Z.; BARRETO, D. W. Production of concentrated natural beta-carotene from buriti (*Mauritia vinifera*) oil by enzymatic hydrolysis. **Food and bioproducts processing**. 90, 141–147, 2012.

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

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

RODRIGUES, A. M. C.; DARNET, S.; SILVA, L. H. M. Fatty Acid Profiles and Tocopherol Contentsof Buriti (*Mauritia flexuosa*), Patawa (*Oenocarpusbataua*), Tucuma (*Astrocaryumvulgare*), Mari (*Poraqueibaparaensis*) and Inaja (*Maximilianamaripa*) Fruits. **Journal Brazilian Chem. Society**. v.21, No. 10, 2010.

RODRIGUES-AMAYA, D. B. **A guide to carotenoid analysis in foods**, Washington, DC: OMNI Research ILSI Press, 64 p, 1999.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **A guide to carotenoid analysis in foods**. ILSI PRESS. International Life Sciences Institute, Washington, D. C., 2001.

RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Assessment of The provitamina A contents of. Foods - the Brazilian experience. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.9, p.196-230, 1996.

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

ROSENTHAL, A.; PYLE, D. L.; NIRANJAN, K. Aqueous and Enzymatic Processes for Edible Oil Extraction. **Enzyme Microbiology Technology**, v. 19, p. 402–420, 1996.

ROSENTHAL, A.; PYLE, D. L.; NIRANJAN, K. Simultaneous aqueous extraction of oil and protein from soybean: mechanisms for process design. **Trans I Chem E**, v. 76, Part C, p. 224–230, 1998.

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, p. 5062-5072, 2007.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; JIMÉNEZ, J. P.; CALIXTO, F. D. S. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS.+ . Comunicado Técnico 128. **Embrapa**, Fortaleza, 2007.

RULL, V.; MONTOYA, E. *Mauritia flexuosa* palm swamp communities: natural or human-made? A palynological study of the Gran Sabana region (northern South America) within a neotropical context. **Quaternary Science Reviews**, 2014.

SAMANIEGO-SÁNCHEZ, C.; QUESADA-GRANADOS, J. J.; DE LA SERRANA, H. L. G.; LÓPEZ-MARTÍNEZ, M. C. β -Carotene, squalene and waxes determined by chromatographic method in picual extra virgin olive oil obtained by a new cold extraction system. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.23, p. 671–676, 2010.

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**, 192, 67–74, 2016.

SANTOS, G. M.; MAIA, G. A.; SOUSA, P. H. M.; COSTA, J. M. C.; FIGUEIREDO, R. W.; PRADO, G. M.. Correlação entre atividade antioxidante e compostos bioativos de polpas comerciais de açaí (*Euterpe oleracea* Mart). **Arch Latinoam Nutr**, 58(2):187-92, 2008.

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

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

SHAHIDI, F.; JANITHA, P. K.; WANASUNDARA, P. D.. Phenolic antioxidants. **Food Sci Nutr**, 32(1): 67-103, 1992.

SHARMA, A., KHARE, S. K., & GUPTA, M. N.. Enzyme assisted aqueous extraction of peanut oil. **Journal of American Oil Chemists' Society**, 79, 215–218, 2002.

SHERBA, S. E., STEIGERWALT, R. B., FAITH, W. T., SMYTHE JR., C. V. Soybean fractionation employing a protease. U.S. patent 3,640,725; 1972.

SHI, J., EBRIK, M.A., YANG, B., GARLOCK, R.J., BALAN, V., DALE, B.E., PALLAPOLU, V.R., LEE, Y.Y., KIM, Y., MOSIER, N.S., LADISCH, M. R., HOLTZAPPLE, M. T., FALLS, M., RAMIREZ, R. S., DONOHOE, B. S., VINZANT, T. B., ELANDER, R. T., HAMES, B., THOMAS, S., WARNER, R. E., WYMAN, C. E. Application of cellulose and hemicellulose topure xylan, pure cellulose, and switch grass solids from leading pretreatments. **Bioresource Technology**, 102:80–88, 2011.

SHI, J.; KHATRI, M.; XUE, S. J.; MITTAL, G. S.; MA, Y.; LI, D. Solubility of lycopene in supercritical CO₂ fluid as effected by temperature and pressure. **Separation and Purification Technology**. v.66. p.322-328. 2009.

SILVA, J.M.; COELHO, M.J.; LIMA, K.S.C.; LIMA, A.I.S.; GODOY, R.L.O.; PACHECO, S.; FERREIRA, R.S. Evaluation of carotenoid contents irradiated Buriti (*Mauritia flexuosa*, L.). **International Nuclear Atlantic Conference**. Santos-SP. 5p, 2007.

SILVA, S. M.; SAMPAIO, K. A.; TAHAM, T.; ROCCO, S. A.; CERIANI, R.; MEIRELLES, A. J. A.. Characterization of Oil Extracted from Buriti Fruit (*Mauritia flexuosa*) Grown in the Brazilian Amazon Region. **J Am Oil Chem Soc**, 86:611–616, 2009.

SIQUEIRA, F. G.; FERREIRA FILHO, E. X. Plant Cell Wall as a Substrate for the Production of Enzymes with Industrial Applications. **Bentham Science Publishers**, 7:54–60, 2010.

SINEIRO, J.; DOMÓNGUEZ, H.; N—EZ, M. J. Influencia del tratamiento enzimático en la calidad de aceites vegetales. **Grasas y Aceites**, v. 49, n. 2, p. 191-202, 1998.

SINGH, J., BARGALE, P.C. Development of a small capacity double stage compression screw press for oil expression. **Journal of food engineering**, v. 43, p. 75-82, 2000.

SINGHANIA, R. R.; SUKUMARAN, R. K.; PATEL, A. K.; LARROCHE, C.; PANDEY, A. Advancement and comparative profiles in the production technologies using solid-state and submerged fermentation for microbial cellulases. **Enzyme Microb.Tech.**, v. 46, p. 541–549, 2010.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **Am. J. Enol. Vitic.**, 16, 144 – 168, 1965.

SOUZA, D. F. S.; ANTONIASSI, R.; FREITAS, S. C.; HUMBERTO RIBEIRO BIZZO, H. R. Estabilidade oxidativa dos óleos de macadâmia e de pistache. **B.CEPPA**, v. 25, n. 1, jan./jun. 2007.

SUN, J.; CHU, Y. F.; WU, X.; LIU, R. H.. Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits. **J Agric Food Chem**, 50(25):7449-54, 2002.

SZYDLOWSKA-CZERNIAK, A.; KARLOVITS, G.; DIANOCZKI, C.; RECSEG, K.; SZLYK, E. Comparison of two analytical methods for assessing antioxidant capacity of rapeseed and olive oils. **Journal of American Oil Chemistry Society**, 85: 141-149, 2008.

TABTABAEI, S.; DIOSADY, L. L. Aqueous and enzymatic extraction processes for the production of food-grade proteins and industrial oil from dehulled yellow mustard flour. **Food Research International**, 52, 547–556, 2013.

TAVARES, M.; AUED-PIMENTEL, S.; LAMARDO, L. C. A.; CAMPOS, N. C.; JORGE, L. I. F.; GONZALEZ, E. Composição química e estudo anatômico dos frutos de buriti do Município de Buritizal, Estado de São Paulo. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, 62 (3), 227-232, 2003.

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

TOWA, L. T., KAPCHIE, V. N., HAUCK, C., & MURPHY, P. A. Enzyme-assisted aqueous extraction of oil from isolated oleo somes of soybean flour. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 87, 347–354, 2010.

TRIVEDI, N.; GUPTA, V.; KUMAR, M.; KUMARI, P.; REDDY, C. R. K.; JHA, B. An alkali-halotolerant cellulase from *Bacillus flexus* isolated from green seaweed *Ulva lactuca*. **Carbohydr. Polym.**, v.83, p.891-897, 2011.

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

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

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

WANG^b, Q., ZHANG, L., JI, H., & YAN, H.. Study on aqueous enzymatic extraction of pumpkin seed oil. **Cereals and Oils**, 8, 21–23, 2011.

WILLWMS, P.; KUIPERS, N. J. M.; HAAN, A. B. Hydraulic pressing of oiuseeds: Experimental determination and modeling of yield and pressing rates. **Journal of Food Engineering**, v. 89, 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, p. 527–533, 2009.

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

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

ZAGHDOUDI, K.; PONTVIANNE, S.; FRAMBOISIER, X.; ACHARD, M.; KUDAIBERGENOVA, R.; AYADI-TRABELSI, M.; KALTHOUM-CHERIF, J.; VANDERESSE, R.; FRONCHOT, C.; GUIAVARCH, Y. Accelerated solvent extraction of carotenoids from: Tunisian Kaki (*Diospyros kaki* L.), peach (*Prunus persica* L.) and apricot (*Prunus armeniaca* L.). **Food Chemistry**, v.184. p.131-139. 2015.

ZANATTA, C. F.; UGARTONDO, V.; MITJANS, M.; ROCHA-FILHO, P. A.; VINARDELL, M. P. Low cytotoxicity of creams and lotions formulated with Buriti oil (*Mauritia flexuosa*) assessed by the neutral red release test. **Food and Chemical Toxicology**, 46, 2776–2781, 2008.

ZHANG, P.; HIMMEL, M. E.; MIELENZ, J.R. Outlook for cellulose improvement: Screening and selection strategies. **Biotechnology Advances**, 24:452-481, 2006.

ZHANG, S. B.; WANG, Z.; XU, S. Y. Optimization of the aqueous enzymatic extraction of rapeseed oil and protein hydrolysates. **Journal of the American Oil Chemists' Society**. 84 (8): 97-105, 2007.

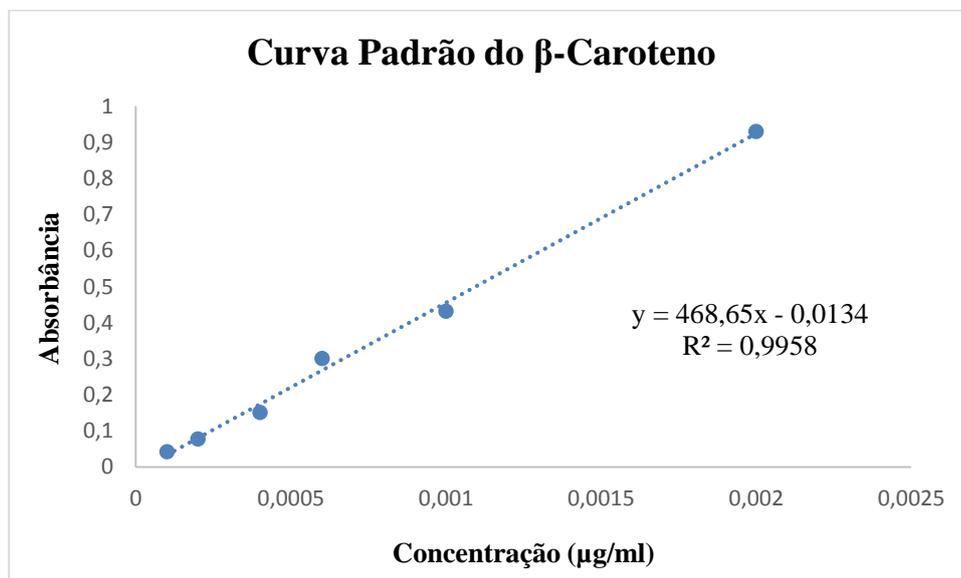
ZHANG, Y.; LI, S.; YIN, C.; JIANG, D.; YAN, F.; XU, T.. Response surface optimisation of aqueous enzymatic oil extraction from bayberry (*Myrica rubra*) kernels. **Food Chemistry**, 135, 304–308, 2012.

ZHAO, Z.; MOGHADASIAN, M.H. Chemistry, natural sources, dietary intake and pharmacokinetic properties of ferulic acid: A review. **Food Chem.**, 109, 691–702, 2008.

Apêndice 1

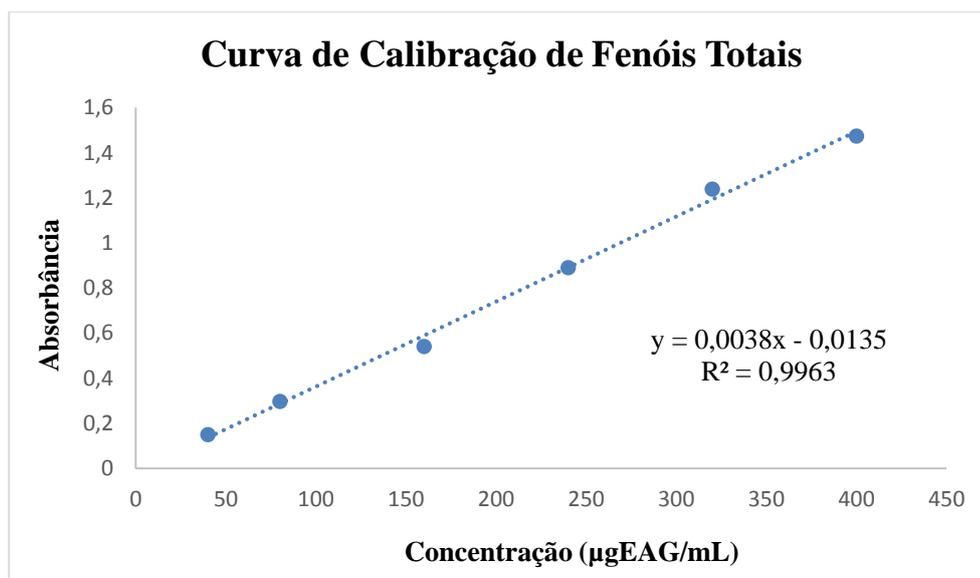
Curva Padrão do β -Caroteno

A curva padrão de β -caroteno corresponde à relação gráfica entre os valores de absorvância e concentração.



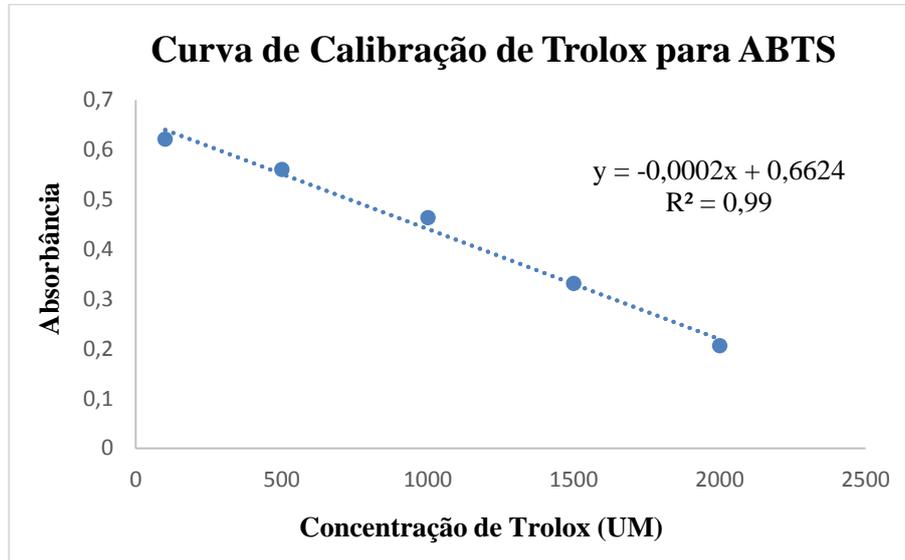
Curva de Calibração de Fenóis Totais

A curva foi feita utilizando ácido gálico como padrão dissolvido em metanol. A curva corresponde à relação gráfica entre os valores de absorvância e concentração.



Curva de calibração do Trolox

A curva de calibração do Trolox para o ABTS corresponde à relação gráfica entre os valores de absorbância e concentração.



Anexo 1

Celluclast®

1.5 L

Neste produto a atividade enzimática chave é fornecida por celulase que hidrolisa ligações (1,4)-beta-D-glicosídica em celulose e outros beta-D-glucanas

CARACTERÍSTICAS DO PRODUTO

Enzima Declarada	celulase
Atividade declarada	700 EGU/g
Cor	marrom claro a escuro
Apresentação	Líquido
Densidade de aproximadamente (g/ml)	1,22
Odor	Ligeiro odor de fermentação

A cor pode variar de um lote para outro. A intensidade da cor não é um indicativo da atividade enzimática.

ESPECIFICAÇÃO DO PRODUTO

	Limite Inferior	Limite Superior	Unidade
Endoglucanase unit EGU	700		/g
Contagem total de viáveis	-	10000	/g
Bactéria Coliformo	-	30	/g
E.Coli	Não detectado		/25 g
Salmonella	Não detectado		/25 g
Metais pesados		Máx 30	mg/kg
Chumbo		Máx 5	mg/kg
Arsênico		Máx 3	mg/kg
Cádmio		Máx 0,5	mg/kg
Mercurio		Máx 0,5	mg/kg

O método analítico da enzima está disponível no Portal do Cliente (Customer Centre) ou com o seu representante de vendas.

COMPOSIÇÃO

Conservantes	Sorbato de potássio
Estabilizantes	Cloreto de sódio Sorbitol

INFORMAÇÃO SOBRE ALERGIA

Alergénico	Substância contida ¹	Alergénico	Substância contida ¹
Carne bovina	não	Lactose	não
Cenoura	não	Leguminosas	não
Aipo	não	Tremoço	não
Cereais contendo glúten ²	não	Leite	não
Carne de frango	não	Moluscos	não
Cacau	não	Mostarda	não
Coentro	não	Nozes ³	não
Milho	não	Amendoim	não
Crustáceos	não	Carne de porco	não
Ovo	não	Gergelim	não
Peixe	não	Soja	não
Glutamato	não	Dióxido de enxofre/sulfitos, mais que 10 mg por kg ou l	não

¹Definição de substâncias de acordo com LeDa/ALBA e o Regulamento 1169/2011 da União Europeia

²Isto é, trigo, centeio, cevada, aveia, espelta, kamut

³Isto é, amêndoa, avelã, noz, castanha de caju, noz-pecã, castanha do Pará, pistache, macadâmia e noz de Queensland

STATUS GM

Este produto não é um OGM.

O produto enzimático é produzido por fermentação de um microrganismo que não está presente no produto final. O organismo de produção não é modificado usando uma biotecnologia moderna.

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO

Temperatura de armazenamento: 0-25 °C (32-77 °F)

A embalagem deve ser mantida intacta, seca e ao abrigo da luz. Siga as recomendações e use o produto antes da data de validade expirar para evitar a necessidade de uma dosagem maior.

Melhor utilizar antes de: A data de validade encontra-se no certificado de análise ou na embalagem do produto.

O produto oferece desempenho ideal quando armazenado conforme recomendado e usado dentro de 18 meses da data de produção.

Pectinex® Ultra SP-L

Neste produto a atividade enzimática chave é fornecida por poligalacturonase, que hidrolisa ligações (1,4)-alfa-D-galactosidurônicas no pectato e outros galacturonanos

CARACTERÍSTICAS DO PRODUTO

Enzima Declarada	Poligalacturonase
Atividade declarada	3800 PGNU/ml
Cor	marrom claro a escuro
Apresentação	Líquido
Densidade de aproximadamente (g/ml)	1,16
Odor	Ligeiro odor de fermentação
Solubilidade	O componente ativo é facilmente solúvel em água em todas as concentrações que ocorrem em uso normal. Os componentes utilizados para padronização podem causar turbidez na solução.

A cor pode variar de um lote para outro. A intensidade da cor não é um indicativo da atividade enzimática.

ESPECIFICAÇÃO DO PRODUTO

	Limite inferior	Limite Superior	Unidade
Pectinase unit PGNU	3800	50000	/ml
Contagem total de viáveis		30	/g
Bactéria Coliforme			/g
E.Coli	Não detectado		/25 g
Salmonella	Não detectado		/25 g
Metais pesados		Máx 30	mg/kg
Chumbo		Máx 5	mg/kg
Arsénico		Máx 3	mg/kg
Cádmio		Máx 0.5	mg/kg
Mercúrio		Máx 0.5	mg/kg

COMPOSIÇÃO

Ingredientes	% aprox. (p/p)
Glicerol, CAS no. 56-81-5	45
Água, CAS no. 7732-18-5	45
Poligalacturonase, CAS no. 9032-75-1*	5
Cloreto de potássio, CAS no. 7447-40-7	5

* Definido como enzima conc. (base matéria seca)

Sem adição de preservantes

INFORMAÇÃO SOBRE ALERGIA

Alergênico	Substância contida ¹	Alergênico	Substância contida ¹
Carne bovina	não	Lactose	não
Cenoura	não	Leguminosas	não
Alpo	não	Tremoço	não
Cereais contendo glúten ²	não	Leite	não
Carne de frango	não	Moluscos	não
Cacau	não	Mostarda	não
Coentro	não	Nozes ³	não
Milho	não	Amendoim	não
Crustáceos	não	Carne de porco	não
Ovo	não	Gergelim	não
Peixe	não	Soja	não
Glutamato	não	Dióxido de enxofre/sulfitos, mais que 10 mg por kg ou l	não

¹Definição de substâncias de acordo com LeDa/ALBA e o Regulamento 1169/2011 da União Europeia

²Isto é, trigo, centeio, cevada, aveia, espelta, kamut

³Isto é, amêndoas, avelã, noz, castanha de caju, noz-pecã, castanha do Pará, pistache, macadâmia e noz de Queensland

STATUS GM

Este produto não é um OGM.

Organismo de produção: *Aspergillus aculeatus*

O produto enzimático é produzido por fermentação de um microrganismo que não está presente no produto final. O organismo de produção não é modificado usando uma biotecnologia moderna.

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO

Temperatura de armazenamento: 0-10 °C (32-50 °F)

A embalagem deve ser mantida intacta, seca e ao abrigo da luz. Siga as recomendações e use o produto antes da data de validade expirar para evitar a necessidade de uma dosagem maior.

Melhor utilizar antes de: A data de validade encontra-se no certificado de análise ou na embalagem do produto.

O produto oferece desempenho ideal quando armazenado conforme recomendado e usado antes da data de validade.

O produto pode ser entregue em temperatura ambiente. Após a entrega, o produto deve ser armazenado conforme recomendado a 0-10°C/32-50°F.

Alcalase®

2.4 L FG

Neste produto a atividade enzimática chave é fornecida por serina endoprotease, que hidrolisa ligações peptídicas internas

CARACTERÍSTICAS DO PRODUTO

Enzima Declarada	protease (Subtilisina)
Atividade declarada	2,4 AU-A/g
Cor	marrom claro a escuro
Apresentação	Líquido
Densidade de aproximadamente (g/ml)	1,17

A cor pode variar de um lote para outro. A intensidade da cor não é um indicativo da atividade enzimática.

SPECIFICAÇÃO DO PRODUTO

	Limite Inferior	Limite Superior	Unidade
Protease unit AU-A	2,4		/g
Contagem total de viáveis	-	50000	/g
Bactéria Coliforme	-	30	/g
E.Coli	Não detectado		/25 g
Salmonella	Não detectado		/25 g
Metais pesados		Máx 30	mg/kg
Chumbo		Máx 5	mg/kg
Arsênico		Máx 3	mg/kg
Cádmio		Máx 0.5	mg/kg
Mercurio		Máx 0.5	mg/kg

O método analítico da enzima está disponível no Portal do Cliente (Customer Centre) ou com o seu representante de vendas.

COMPOSIÇÃO

Ingredientes	% aprox. (p/p)
Glicerol, CAS no. 56-81-5	50
Água, CAS no. 7732-18-5	41
Protease (Subtilisina), CAS no. 9014-01-1*	9

*Definido como enzima conc. (base matéria seca)

INFORMAÇÃO SOBRE ALERGIA

Alergênico	Substância contida ¹	Alergênico	Substância contida ¹
Carne bovina	não	Lactose	não
Cenoura	não	Leguminosas	não
Aipo	não	Tremoço	não
Cereais contendo glúten ²	não	Leite	não
Carne de frango	não	Moluscos	não
Cacau	não	Mostarda	não
Coentro	não	Nozes ³	não
Milho	não	Amendoim	não
Crustáceos	não	Carne de porco	não
Ovo	não	Gergelim	não
Peixe	não	Soja	não
Glutamato	não	Dióxido de enxofre/sulfitos, mais que 10 mg por kg ou l	não

¹Definição de substâncias de acordo com LeDa/ALBA e o Regulamento 1169/2011 da União Europeia

²Isto é, trigo, centeio, cevada, aveia, espelta, kamut

³Isto é, amêndoa, avelã, noz, castanha de caju, noz-pecã, castanha do Pará, pistache, macadâmia e noz de Queensland

VALORES NUTRICIONAIS

O produto possui um valor nutricional típico de aproximadamente 653 kJ/100 g produto enzimático.

• Proteína	9 g/100 g
• Polióis	50 g/100 g
• Umidade	41 g/100 g

STATUS GM

Este produto não é um OGM.

Organismo de produção *Bacillus licheniformis*

O produto enzimático é produzido por fermentação de um microrganismo que não está presente no produto final. O organismo de produção não é modificado usando uma biotecnologia moderna.