



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

SILVIA PATRICIA GUTIÉRREZ RUEDA

APLICAÇÃO DE TECNOLOGIA ENZIMÁTICA NA EXTRAÇÃO DE ÓLEO E
CAROTENOIDES DE DENDÊ (*Elaeis guineensis*)

BELÉM/PA

2016



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

APLICAÇÃO DE TECNOLOGIA ENZIMÁTICA NA EXTRAÇÃO DE ÓLEO E
CAROTENOIDES DE DENDÊ (*Elaeis guineensis*)

SILVIA PATRICIA GUTIÉRREZ RUEDA

(Engenheira em Biotecnologia)

Dissertação de Mestrado apresentado ao
Programa de Pós-graduação em Ciência e
Tecnologia de Alimentos da Universidade
Federal do Pará, para obtenção do grau de
Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador Prof. Dr. ANTONIO MANOEL DA CRUZ RODRIGUES.

BELÉM/PA 2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Gutiérrez Rueda, Silvia Patricia

Aplicação de tecnologia enzimática na extração de óleo e carotenoides de dendê /Silvia Patricia Gutiérrez Rueda.- 2016.

Orientador: Antonio Manoel da Cruz Rodrigues

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Pará. Instituto de Tecnologia. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Belém, 2016

1. Óleos vegetais- Extração 2. Enzimas 3. Carotenóides
4. Óleo de palmeira I. Título

CDD 22.ed.664.022

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Antonio Manoel da Cruz Rodrigues
FEA/ITEC/UFPA- Orientador

Prof^a. Dra. Alessandra Santos Lopes
FEA/ITEC/UFPA – Membro

Prof. Dr. Nelson Rosa Ferreira
FEA/ITEC/UFPA – Membro

Prof. Dr. Hamilton Mendes de Figueiredo
FEA/ITEC/UFPA – Membro externo

“Acredite num amor que lhe é conservado como uma herança
e fique certo de que há nesse amor uma força e uma bênção
a que não se arrancará mesmo se for para muito longe”.

Rainer Maria Rilke

AGRADECIMENTOS

Início meus agradecimentos por Deus, já que ele colocou pessoas tão especiais a meu lado, sem as quais certamente não teria conseguido.

Aos meus pais, Nancy Rueda e Patricio Gutiérrez, por terem me dado educação, valores e por terem me ensinado a andar. Sempre me incentivaram a alcançar caminhos cada vez mais distantes.

Aos meus irmãos, Jonathan e Ismael por seu apoio, eles sempre se orgulharam de mim e confiaram em meu trabalho. Obrigada pela confiança.

Ao prof. Antonio, é claro, que acreditou em meu potencial. Sempre disponível e disposto a me ajudar, querendo que eu aproveitasse cada segundo dentro do mestrado para absorver algum tipo de conhecimento.

A prof^a. Luiza pelo incentivo e imensurável colaboração na realização deste trabalho e ainda por contribuir para meu crescimento profissional e pessoal.

À prof^a. Alessandra, ao prof. Hamilton e ao prof. Nelson pelas correções e sugestões feitas no desenvolvimento do trabalho.

A Universidade Federal do Pará e ao Programa de Pós-graduação de Ciência e Tecnologia de Alimentos e a todos os seus funcionários, pela oportunidade de realizar o mestrado e pelos ensinamentos.

À AGROPALMA e NOVOZYME pela doação de matéria-prima e das enzimas.

Aos colegas de curso, funcionários e professores do programa, pela amistosa convivência. A todos que conheço e que convivi durante todo esse período.

Aos meus colegas de laboratório (LAMEFI) que me receberam com os braços abertos, obrigada pela amizade e pela ajuda, hoje deixam uma grande saudade.

Agradecimento a Capes e a OEA pela oportunidade e concessão de bolsa.

Aos meus amigos “Los mismos de siempre” (Heliana, Leslye, Hernan e Yapur) obrigada por ter sido minha família neste tempo, nada houvesse sido igual sem vocês.

Ninguém vence sozinho... OBRIGADA A TODOS.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Planta de dendê.	21
Figura 2. Estrutura geral de um triacilglicerol.....	22
Figura 3. Estrutura de um carotenoide (fitoeno).	26
Figura 4. Principais carotenos	27
Figura 5. Algumas xantofilas	28
Figura 6. Reação entre carotenoides e radicais livres.....	31
Figura 7. Últimas etapas da biossíntese de carotenoides.....	36
Figura 8. Estrutura de tocoferóis e tocotrienóis	37
Figura 9. Estruturas de ácidos fenólicos.....	39
Figura 10. Estrutura da parede celular da célula vegetal.....	40
Figura 11. Modo de ação das enzimas do complexo celulolítico.....	46
Figura 12. Modo de ação enzimática das pectinases em uma molécula de pectina	48
Figura 13. Fluxograma de processamento da amostra.	50
Figura 14. Dendê in natura.	51
Figura 15. Prensagem do dendê para obter o óleo de palma.	51
Figura 16. Amostra triturada de dendê.	52
Figura 17. Superfície de resposta e curva de contorno celulase no dendê prensado para rendimento de extração de óleo.....	66
Figura 18. Superfície de resposta e curva de contorno da celulase no dendê sem prensado para rendimento de extração de óleo.	67
Figura 19. Superfície de resposta e curva de contorno da pectinase no dendê prensado para rendimento de extração de óleo.....	68
Figura 20. Superfície de resposta e curva de contorno da pectinase no dendê sem prensado para rendimento de extração de óleo.	69
Figura 21. Superfície de resposta e curva de contorno da alcalase no dendê prensado para rendimento de extração de óleo.....	70
Figura 22. Superfície de resposta e curva de contorno da alcalase no dendê sem prensado para rendimento de extração de óleo	71
Figura 23. Superfície de resposta e curva de contorno da celulase no dendê prensado para a concentração de carotenoides.	76
Figura 24. Superfície de resposta e curva de contorno da celulase no dendê sem prensar para a concentração de carotenoides.	77

Figura 25. Superfície de resposta e curva de contorno da pectinase no dendê prensado para a concentração de carotenoides.	78
Figura 26. Superfície de resposta e curva de contorno da pectinase no dendê sem prensar para a concentração de carotenoides.	79
Figura 27. Superfície de resposta e curva de contorno da alcalase no dendê prensado para a concentração de carotenoides.	80
Figura 28. Superfície de resposta e curva de contorno da alcalase no dendê sem prensar para a concentração de carotenoides.	81
Figura 29. Relação das concentrações de ácido oleico e linoleico.	93

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Proporção de ácidos graxos.	24
Tabela 2. Proporção de tocoferóis e tocotrienóis.	24
Tabela 3. Potenciais fontes vegetais produtoras de β -caroteno	41
Tabela 4. Níveis das variáveis de entrada.....	53
Tabela 5. Tabela de planejamento experimental de extração enzimática.....	54
Tabela 6. Composição centesimal do fruto de dendê em base seca.	59
Tabela 7. Acidez e pH das amostras.....	60
Tabela 8. Caracterização das atividades enzimáticas.	60
Tabela 9. Matriz DCCR para o tratamento enzimático.	62
Tabela 10. Análise de Variância (ANOVA) para o rendimento de óleo do dendê.	64
Tabela 11. Modelo reduzido do rendimento do óleo em função das variáveis independentes, teste F e R^2	65
Tabela 12. Análise de Variância (ANOVA) para a concentração de carotenoides do óleo do dendê.	73
Tabela 13. Modelo reduzido De carotenoides em função das variáveis independentes, teste F e R^2	75
Tabela 14. Validação experimental do modelo para o rendimento do óleo.	82
Tabela 15. Validação experimental do modelo para a concentração de carotenoides... 82	
Tabela 16. Teor de carotenoides totais presentes nas amostras de óleo.	83
Tabela 17. Resultados para Fenóis Totais no óleo e efluentes dos processos.	85
Tabela 18. Capacidade antioxidante no óleo de palma.....	86
Tabela 19. Análises de cor do óleo de palma.	88
Tabela 20. Análises de ácidos graxos livres para o óleo de palma.....	89
Tabela 21. Análises de estabilidade oxidativa dos óleos de palma.	90
Tabela 22. Perfil de ácidos graxos das amostras de óleo de palma	92

LISTA DE SIGLAS

ADP	Extração com alcalase do dendê prensado
ADSP	Extração com alcalase do dendê sem prensar
BDP	Branco dendê prensado
BDSP	Branco dendê sem prensar
BHT	Hidroxitolueno butilado
CDP	Extração com celulase dendê prensado
CDSP	Extração com celulase dendê sem prensar
EROs	Espécies reativas de oxigênio
ROO•	Radical peroxil
DNA	Ácido desoxirribonucleico
OB1	Óleo extraído enzimáticamente do dendê sem prensar
OB2	Óleo extraído enzimáticamente do dendê prensado
OB3	Óleo extraído por prensagem
PDP	Extração com pectinase do dendê prensado
PDSP	Extração com pectinase do dendê sem prensar
DSP	Dendê sem prensar
DP	Dendê prensado

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	6
LISTA DE FIGURAS	7
LISTA DE TABELAS	9
LISTA DE SIGLAS	10
SUMÁRIO	11
RESUMO	14
ABSTRACT	15
1. INTRODUÇÃO:	16
2. OBJETIVOS	19
2.1. OBJETIVO GERAL	19
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
3. REVISÃO DA LITERATURA:	20
3.1. Caracterização do dendê (<i>Elaeis guineensis</i>).....	20
3.2. Óleo vegetais.....	21
3.2.1. Óleo de palma.....	22
3.3. Carotenoides	26
3.3.1. Estrutura dos carotenoides.....	26
3.3.2. Características dos carotenoides.....	26
3.3.3. Biodisponibilidade dos carotenoides	29
3.3.4. Propriedades dos carotenoides.....	29
3.3.5. Função dos carotenoides.....	33
3.3.6. Biossíntese de carotenoides	34
3.4. Tocoferóis e Tocotrienóis	37
3.5. Compostos fenólicos.....	38
3.6. Composição da parede celular	39

3.7.	Tecnologias para extração de carotenoides.....	40
3.7.1.	Extração enzimática.....	43
4.	MATERIAIS E MÉTODOS.....	50
4.1.	Processo de extração do óleo	50
4.1.1.	Esterilização.....	51
4.1.3.	Liofilização.....	51
4.1.4.	Trituração.....	52
4.2.	Caracterização físico – química	52
4.3.	Atividade enzimática	53
4.4.	Tratamento enzimático	53
4.5.	Caracterização em função dos processos aplicados.....	54
4.5.1.	Caracterização dos Óleos.....	54
4.5.1.1.	Rendimento do óleo extraído.....	54
4.5.2.	Compostos antioxidantes	56
4.5.3.	Compostos Fenolicos.....	56
4.5.4.	Capacidade antioxidante pelo método ABTS.....	57
4.6.	Análises estatístico.....	58
5.	RESULTADOS E DISCUSSÕES	59
5.1.	Caracterização físico-química da matéria-prima	59
5.2.	Atividade enzimática	60
5.3.	Avaliação do tratamento enzimático.....	61
5.3.1.	Planejamento experimental.....	61
4.1.1.	Validação experimental do modelo	82
4.2.	Extração do óleo por prensagem mecânica.....	83
4.3.	Caracterização em função dos processos aplicados	83
4.3.1.	Compostos antioxidantes	83
4.3.2.	Caracterização físico química do óleo.....	87

5. CONCLUSÕES	94
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	96
7. APÊNDICE.....	114

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o comportamento enzimático na extração de óleo e carotenoides do dendê (*Elaeis guineensis*) em diferentes condições de temperatura, concentração enzimática e tempo. As enzimas comerciais empregadas para o tratamento enzimático foram celulase, pectinase e protease. A avaliação do processo de extração enzimática foi realizada para o dendê prensado (DP) e o dendê sem prensar (DSP), usando um planejamento experimental fatorial completo 2^3 com 3 repetições no ponto central, utilizando um delineamento composto central rotacional (DCCR) combinado com a metodologia de superfície de resposta (MSR). Para o processo enzimático as variáveis independentes foram temperatura (°C), concentração enzimática (%) e tempo (t). Para o processo as variáveis resposta foram rendimento de extração de óleo e concentração de carotenoides, melhor ensaio para a celulase e pectinase foi o ensaio 4 (temperatura: 55 °C, concentração de enzima 4% e tempo 60 min) e para a alcalase o ensaio 10 (temperatura: 60 °C, concentração de enzima 3% e tempo 120). As amostras extraídas com enzimas apresentaram os seguintes valores de rendimento de óleo e concentração de carotenoides: celulase dendê prensado = 76,57% e 473,78 ppm; celulase dendê sem prensado = 81,57% e 680,67ppm; pectinase dendê prensado = 87,58% e 560,68ppm; pectinase dendê sem prensado = 88,53% e 874,45ppm; alcalase dendê prensado = 70,20% e 866,42ppm e alcalase dendê sem prensado = 73,33 e 1174,86ppm. A extração aquosa enzimática apresentou a variável de maior efeito a concentração enzimática com efeito positivo sobre o processo. Em relação à concentração de carotenoides, antioxidantes e fenóis totais o óleo extraído com a enzima alcalase apresentou um valor maior comparado com os óleos extraídos com celulase e pectinase. A concentração de ácidos graxos livres no óleo bruto pode variar dependendo da fonte e das técnicas de extração utilizadas e os resultados mostram que extração enzimática é uma boa alternativa para obter um óleo com melhores propriedades. Quanto ao perfil de ácidos graxos, não houve muita variação entre a amostra extraída por prensagem, os brancos e as amostras obtidas pelo método enzimático.

Palavras-chave: óleo de palma, carotenoides, maceração enzimática.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the oil enzymatic extraction and carotenoids oil palm (*Elaeis guineensis*) in different conditions of temperature, enzyme concentration and time. The commercial enzymes used for the treatment were cellulose, pectinase and protease. To evaluate the enzymatic extraction process was carried out for the pressed palm oil (DP) and the palm without pressing (DSP), using a full factorial design 2^3 with three repetitions at the central point, using a central composite design (CCD) combined with the response surface methodology (RSM). For the enzymatic process the independent variables were temperature ($^{\circ}$ C), enzyme concentration (%) and time (t). The process response variables were the oil extraction and carotenoids concentration, the best assay for cellulose and pectinase was the assay 4 (temperature: 55 $^{\circ}$ C, enzyme concentration: 4% and time: 60 min.) and for the alcalase was the assay 10 (temperature: 60 $^{\circ}$ C, enzyme concentration: 3% and time: 120 min.). The samples extracted with enzymes showed the oil yield values and carotenoids concentration: CDP=76.57% and 473.78 ppm; CDSP= 81.57% and 680.67ppm; PDP=87.58% and 560.68ppm; PDSP=88.53% and 874.45ppm; ADP=70.20% and 866.42ppm and ADSP=73.33 and 1174.86ppm. The aqueous enzymatic extraction showed the greatest effect of varying the enzyme concentration. In relation to the concentration of carotenoids, antioxidants and phenolic compounds from the oil, the alcalase has a higher value compared to oils extracted with cellulose and pectinase. The concentration of free fatty acids in crude oil may vary depending on the source and extraction techniques used, and the results show that the enzymatic extraction is a good alternative to obtain an oil with better properties. Regarding the profile of fatty acids, there was not much variation between the oil extracted by pressing and the oil obtained by enzymatic method.

Keywords: palm oil, carotenoids, enzymatic maceration.

1. INTRODUÇÃO:

O dendê (*Elaeis guineensis*), é o fruto do dendezeiro e tem como principal produto o óleo extraído industrialmente da polpa do fruto, o óleo de dendê ou de palma, chamado no mercado internacional como *palm oil*. A cultura do dendezeiro é, provavelmente, a de maior potencial de crescimento no mundo entre as culturas de significado econômico. O Brasil possui o maior potencial mundial para a produção do óleo de dendê, devido aos quase 75 milhões de hectares de terras aptas à cultura do dendê, com destaque para os estados do Pará, Bahia e Amapá, principais produtores de dendê no país (IBGE, 2015).

As tortas são os subprodutos do processo de extração industrial do óleo de palma por prensagem mecânica e ainda são ricas em óleo e em outros compostos como carotenoides, é por isso que a criação de sistemas agroindustriais sustentáveis tem sido uma busca constante junto às cadeias produtivas agropecuárias. Estas ações estão sendo implementadas visando o desenvolvimento de tecnologias e processos que possibilitem o aproveitamento integral das matérias-primas agroindustriais. Neste aspecto, ressaltam-se as ações voltadas para o desenvolvimento de produtos diferenciados com boa agregação de valor, tornando o aproveitamento do subproduto das indústrias uma oportunidade no aumento de renda e redução nos custos de produção. Um desafio, portanto, é aquele de como conseguir que as organizações criem e utilizem o conhecimento para inovar (FRANÇA *et al.*, 2008). A utilização de instrumentos e introdução de novas tecnologias, visando diminuir o desperdício das indústrias, possibilitará o surgimento e fortalecimento de novos elos nas cadeias produtivas, integrando-as e consolidando-as, além de diminuir o impacto ambiental (DIVYA *et al.*, 2012).

Os vegetais possuem substâncias biologicamente ativas, as quais têm impulsionado o desenvolvimento de pesquisas por produtos que contribuem com a melhoria da qualidade de vida, provenientes especialmente de fontes naturais. A conservação da cor natural dos alimentos pode ser uma dificuldade dada pelo processamento, que resulta na degradação de pigmentos e exige a adição de corantes (PESCHEL *et al.*, 2006).

Os corantes artificiais, embora mais baratos e mais estáveis quimicamente vêm preocupando a população mundial por sua natureza tóxica, a substituição de corantes sintéticos por naturais também encontra obstáculos, devido ao seu alto custo e falta de

fontes abundantes, por isso novas fontes alternativas de corantes naturais estão sendo buscadas pelos pesquisadores (BOBBIO & BOBBIO, 2001). A exploração de fontes de corantes naturais, como carotenoides em dendê, assume importância na indústria de alimentos porque a cor desperta o interesse do consumidor, desempenhando um papel mercadológico (NOLDIN *et al.*, 2003). A extração e posterior purificação dos carotenoides permitem sua utilização como corantes naturais para a fortificação da cor em sucos e/ou qualquer outro alimento ao invés da utilização de corantes artificiais (GUIL-GUERRERO *et al.*, 2006).

Pesquisas que abarcam compostos antioxidantes procedentes de fontes naturais têm sido desenvolvidas em diferentes centros de estudos devido à sua importância na prevenção do desencadeamento das reações oxidativas nos alimentos e no organismo animal (BROINIZI *et al.*, 2007).

Entre os compostos bioativos estão os carotenoides, que são corantes naturais responsáveis pelas cores amarelas, laranja e vermelho, utilizados nas indústrias alimentícia, farmacêutica, de cosméticos e ração. Além de seu amplo uso como corantes e no enriquecimento de alimentos, também são utilizados devido a sua atividade pró-vitamínica A e as propriedades que resultam em possíveis funções biológicas benéficas à saúde, tais como o fortalecimento do sistema imunológico e a diminuição do risco de doenças degenerativas (certos tipos de câncer, doenças cardiovasculares, degeneração macular e catarata) (LOCK, 2006).

Referente à extração e obtenção de compostos bioativos, têm se estudado novas técnicas e ferramentas que buscam ampliar o rendimento dos processos, como adição de complexos enzimáticos sintéticos entre outros recursos. A enzimologia industrial é importante, já que permite a transformação de produtos naturais em produtos de alto valor agregado. As enzimas são proteínas que participam de várias reações bioquímicas, aceleram reações termodinamicamente favorecidas, e apresentam características estereoespecíficas. Normalmente, os processos enzimáticos têm ação rápida, ausência de toxidez e não geram problemas ambientais, além de ocorrerem em temperaturas e pHs brandos, atuando sobre um substrato específico com uma baixa concentração de preparado enzimático (MAI, TRUONG, & DEBASTE, 2013 e GODFREY & WEST, 1996).

A utilização de enzimas para extração de carotenoides se fundamenta no mecanismo de hidrolises da parede vegetal celular e de compostos de alto peso molecular como proteínas, polifenóis e polissacarídeos. O uso de enzimas na extração de óleos vegetais e compostos biativos foi pesquisado intensamente nas últimas décadas e foi aplicado para oleaginosas de interesse comercial (SANCHEZ, 2011).

Nesse contexto, este trabalho teve por objetivo determinar a melhor condição de extração enzimática (temperatura, concentração enzimática e tempo) de carotenoides do dendê, através da metodologia de superfície de resposta.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Aplicar tecnologia enzimática na extração de óleo e carotenoides de dendê (*Elaeis guineensis*).

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a atividade dos concentrados enzimáticos;
- Avaliar o efeito das enzimas na composição química da biomassa;
- Avaliar o potencial na obtenção de óleo e carotenoides de cada enzima em diferentes temperaturas, tempo e concentração;
- Selecionar a melhor temperatura, tempo e concentração enzimática para a extração;
- Determinar a quantidade de carotenoides totais com a finalidade de saber qual e o melhor tratamento aplicado;
- Comparar a qualidade dos óleos extraídos.

3. REVISÃO DA LITERATURA:

3.1. Caracterização do dendê (*Elaeis guineensis*)

A Amazônia possui cerca de 70 milhões de hectares considerados como áreas aptas ou aproveitáveis para o cultivo do dendezeiro. Dessa área potencial somente 39 mil hectares são utilizados efetivamente com a cultura sendo que quase 90% dessa área cultivada estão localizadas no Estado do Pará (BHOSLE & SUBRAMANIAN, 2005; MACHADO DURÃES, 2011).

O dendê (Figura 1) é uma planta oleaginosa com até 15 m de altura, de ciclo perene, monocotiledônea e pertencente à família das Arecaceae (FERWERDA, 1975; SOUZA, 2012). Os frutos do dendê se agrupam em grandes cachos e são colhidos continuamente conforme amadurecem. O fruto individual é composto da polpa carnuda externa (mesocarpo) em torno de uma castanha, dentro da qual há uma semente. O óleo de palma é extraído da polpa da fruta e o óleo de palmiste é extraído da semente (FAOSTAT, 2013).

Com até 5 cm de comprimento e peso oscilando entre 3 e 30 gramas, o fruto do dendezeiro é classificado como drupa do tipo séssil e elipsado, tendo sua espessura de endocarpo expressa por um gene específico, que classifica o fruto como psifera, dura e tenera (BARCELOS *et al.*, 2000). Segundo Portela (2007), três variedades de dendê são reportadas na literatura, classificadas de acordo com a espessura do endocarpo: psifera, com fruto marcando pela ausência de casca protetora da amêndoa; dura, que apresenta casca com pelo menos 2 mm de espessura; e tenera, com espessura da casca inferior a 2 mm, resultante do intercruzamento das variedades anteriores. Segundo MAPA (2011), o mesocarpo contém em torno de 20-22% de óleo (palma) enquanto que a amêndoa pode alcançar um teor de até 55% de óleo (palmiste). Isto comprova a superioridade em relação ao teor na cultura da soja em diversas linhagens, que varia entre 16,58 e 20,75%, confirmando um alto potencial para produção de biodiesel (BARBOSA *et al.*, 2007; ESPINDOLA *et al.*, 2008).



Figura 1. Planta de dendê (VIRBOGA, 2013).

3.2. Óleo vegetais

O consumo de óleos vegetais tem crescido no mundo todo, substituindo parte do consumo de gorduras animais. A maioria desses óleos são utilizados em procedimentos industriais e na alimentação humana e animal. Em função do aumento do consumo, a produção, que pode ser obtida através de várias espécies vegetais, também tem se elevado (WADA, 2007).

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (2005), os óleos vegetais são produtos obtidos de espécies vegetais, compostos principalmente por ésteres de ácidos graxos unidos a uma molécula de glicerol, podendo conter pequenas quantidades de fosfolipídios, constituintes insaponificáveis e ácidos graxos livres (Figura 2). Por serem susceptíveis a processos de decomposição e volatilização durante as etapas de processamento, os óleos refinados e desodorizados tendem a exibir menores quantidades destes compostos quando comparados aos óleos brutos (FEROLDI, CREMONEZ, & ESTEVAM, 2014). Os ácidos graxos que esterificam com o glicerol

apresentam cadeias alifáticas saturadas e insaturadas, em proporções variáveis. Os óleos e gorduras contêm diferentes tipos de ácidos graxos e dependendo do comprimento da cadeia e do grau de insaturação, podem representar o parâmetro de maior influência sobre as propriedades desses compostos (KNOTHE, 2005). Além disso, os fatores genéticos e ambientais podem definir as proporções dos ácidos graxos saturados e insaturados presentes nos óleos vegetais (BAMGBOYE & HANSEN, 2008).

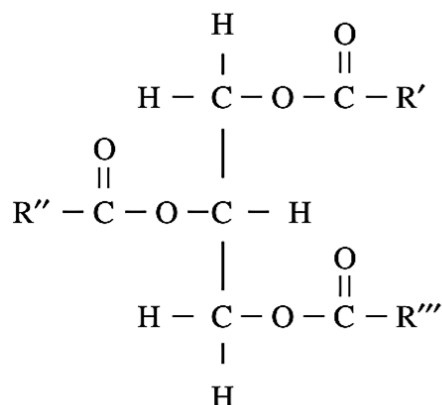


Figura 2. Estrutura geral de um triacilglicerol (R', R'', R''' = grupo alquil saturado ou insaturado; podendo ser igual ou diferente).

As cadeias saturadas e insaturadas nos óleos determinam as diferenças entre as propriedades químicas e físicas destes, tais como: ponto de fusão, peso específico, viscosidade, solubilidade, reatividade química e estabilidade térmica e oxidativa (ZUNIGA *et al.*, 2011). Segundo Semma (2002), nos óleos vegetais ou gorduras animais, o isômero *cis* é mais comumente encontrado. O isômero *trans* apresenta maior linearidade de cadeia que o isômero *cis*, o que explica as diferenças nas propriedades físicas, inclusive no que se refere à sua estabilidade térmica (LARQUÉ, ZAMORA, & GIL, 2001). Ainda de acordo com Semma (2002), os isômeros geométricos *trans* dos ácidos graxos insaturados são também formados nos processos de fritura e no refino de óleos.

3.2.1. Óleo de palma

O óleo de palma popularmente conhecido como azeite de dendê é um produto cujo consumo vem crescendo consideravelmente, estando relacionado a vários fatores como: substituição da gordura animal, maior produtividade em relação aos outros tipos de óleos, reduzido o nível de impacto ambiental e sequestro de carbono da atmosfera, sendo considerado ecologicamente correto. O cultivo do dendezeiro não exige mecanização complexa e o uso reduzido de defensivos agrícolas (CURVELO, 2013).

O óleo de palma é extraído do mesocarpo e apresenta quantidades aproximadamente iguais de ácidos graxos saturados e insaturados: insaturados incluem 39% de ácido oleico e 10% de linoléico; saturados incluem 44% de palmítico e 5% de esteárico. É bastante utilizado para fins alimentícios é empregado como matéria-prima na fabricação de sabões, sabonetes, sabão em pó, detergentes e amaciantes de roupa biodegradáveis, podendo ainda ser usado como combustível em motores a diesel (BRUNCKHORST, 2000).

As principais frações do óleo de palma são a oleína (líquida) e a estearina (sólida); as duas são obtidas através de processos tecnológicos relativamente simples, sendo que através de metodologias mais sofisticadas, como a cristalização controlada são obtidas frações com índice de iodo de 60 ou mais, podem-se obter mais duas frações: uma fração intermediária e uma dupla fração da oleína chamada super-oleína mundial (BHOSLE & SUBRAMANIAN, 2005; CODEX, 2003).

A fração intermediária tem propriedades que se encontram entre a oleína e a estearina, contém 60% de ácido palmítico e 40% de ácido oleico, sendo utilizada do mesmo jeito que a manteiga de cacau (GEE, 2007; MACHADO *et al.*, 2008).

Devido à alta concentração de ácidos graxos saturados que possui o óleo de palma, este óleo apresenta uma boa estabilidade térmica (REDA & CARNEIRO, 2007). Estudos sugere, a substituição dos óleos hidrogenados pelo óleo de palma nos produtos alimentícios, pois este, ao contrário do óleo de soja ou de outro óleo vegetal insaturado, não necessita de hidrogenação para atingir a consistência semelhante à de produtos como margarinas (BORA *et al.*, 2003; KELLENS *et al.*, 2007).

A estearina, fração sólida pode ser utilizada em produtos alimentícios, podendo substituir a gordura vegetal hidrogenada, como a vantagem de não necessitar de hidrogenação os alimentos preparados como esta matéria prima são isentos de ácidos graxos *trans* (CARR & HOGG, 2005; EDEM, 2002).

O óleo de palma bruto é considerado como um óleo balanceado já que contém proporções praticamente iguais de ácidos graxos saturados (palmítico C₁₆ 44% e esteárico C₁₈ 4,4%) e insaturados (oleico C_{18:1} 41% e linoleico C_{18:2} 9,5%) (WATTANAPENPAIBOON & WAHLQVIST, 2003; MALASIAN PALM OILCOUNCIL, 1991).

O óleo de palma refinado, se obtém do óleo de palma bruto, o qual mantém as mesmas características em relação à estabilidade oxidativa, devido a sua proporção de ácidos graxos, mas tem menos conteúdo de carotenoides que o óleo de palma bruto (RODRIGUEZ-AMAYA, 1996).

O óleo de palma é menos saturado que outros óleos. A proporção de ácidos do óleo de palma e suas frações estão descritas na Tabela 1:

Tabela 1. Proporção de ácidos graxos.

Ácido graxo (%)	Nome comum	Óleo de palma (%)	Oleína (%)	Super oleína (%)	Estearina (%)
C ₁₂	Láurico	0-0,2	0,1-0,2	0,4	0,1-0,2
C ₁₄ (14:00)	Mirístico	0,8-1,3	0,9-1,0	1,4	1,0-0,2
C ₁₆ (16:00)	Palmítico	43,1-46,3	39,5-40,8	31,5	46,5-68,9
C ₁₆₌₁ (16:1)	Palmitoleico	Traço	Traço	-	Traço
C ₁₈ (18:00)	Esteárico	4,0-5,5	3,9-4,4	3,2	4,4-5,5
C ₁₈₌₁ (18:1)	Oleico	36,7-40,8	42,7-43,9	49,2	19,9-38,4
C ₁₈₌₂ (18:2)	Linoleico	9,4-11,9	10,6-11,4	13,7	4,1-9,3
C ₁₈₌₃ (18:3)	Linolênico	0,1-0,4	0-0,4	0,3	0,1-0,2
C ₂₀ (20:00)	Araquidônico	0,1-0,4	0,1-0,3	0,4	0,1-0,3
Saturados		50,02	45,8	36,6	52,1-76,2
Monoinsaturados		39,2	42,5	49,2	19,9-38,6
Polinsaturados		10,5	11,6	14,0	4,2-9,5

Fonte: (EDEM, 2002)

O óleo de palma é uma fonte natural de beta caroteno e de vitamina E representada por tocoferóis e tocotrienóis (Tabela 2), além de ser um importante precursor da vitamina A (OLIVEIRA, 2003).

Tabela 2. Proporção de tocoferóis e tocotrienóis.

	Óleo de palma (mg/kg)	Oleína (mg/kg)	Super oleína (m/kg)	Estearina (mg/kg)
Alfa-tocoferol	4-193	ND-44	130-240	ND-100
Beta-tocoferol	ND-234	ND-250	ND-40	ND-50
Gama-tocoferol	ND-526	ND-100	ND-40	ND-50
Delta-tocoferol	ND-123	ND-100	ND-30	ND-50
Alfa-tocotrienol	4-336	50-500	170-300	20-150
Gama-tocotrienol	14-710	20-700	230-420	10-500
Denta-tocotrienol	ND-377	40-120	60-120	5-150
Total (mg/kg)	150-1500	300-1800	400-1400	100-700

ND= não detectado

Fonte: (CODEX, 2003)

A cor do óleo de palma varia do amarelo claro até o laranja-avermelhado, é atribuída à quantidade de carotenoides do fruto (EDEM, 2002; SAMBANTHAMURTHI *et al.*, 2000). O conteúdo total de carotenoides (como β -caroteno) para o óleo de palma não refinado, oleína de palma não refinada e estearina de palma não refinada devem ficar em torno de 500-2000, 550-2500 e 300-1500 $\mu\text{g}/\text{kg}$, respectivamente (CODEX, 2003). O β -caroteno age na prevenção de carência de vitamina A, importante problema de saúde pública em países subdesenvolvidos e em desenvolvimento além de dar proteção contra determinados tipos de câncer (BENAVIDES, *et al.*, 2003; BENADÉ, 2003; CHOO *et al.*, 2005).

O teor de carotenoides no óleo de palma muda de acordo com grau de maturação e genótipo do fruto, do qual é extraído. Devido à alta atividade das lipases, os frutos são submetidos à esterilização tão logo se procede à colheita para evitar a rancidez hidrolítica (CHUANG & BRUNNER, 2006). Devido ao calor empregado na esterilização ocorre degradação dos carotenoides termo sensíveis, no entanto o conteúdo de vitamina A permanece alto, havendo a isomeria do alfa e beta caroteno da forma *trans* para *cis*, a qual apresenta maior bioestabilidade (RODRIGUEZ-AMAYA, 2008).

O óleo de palma bruto possui ainda os chamados constituintes menores, os quais podem ser separados em dois grupos. O primeiro deles é composto por derivados de ácidos graxos, como os mono e diacilgliceróis, fosfatídios, ésteres e esteróis. O segundo inclui compostos que não derivam de ácidos graxos, são os hidrocarbonetos, álcoois alifáticos, esteróis livres, tocoferóis, pigmentos e traços de metais (BERG *et al.*, 2004).

A acidez do óleo de palma depende de inúmeros fatores como: modos de extração, ação de fungos e atividade enzimática. Um aspecto importante a considerar sobre a catálises enzimática é que a atuação da lipoxigenase, e por conta de elevar acidez dos óleos, tem a capacidade para co-oxidar substratos (carotenoides, tocoferóis, clorofila, proteínas, etc.), sendo responsável por novos processos oxidativos (SILVA & PEREIRA, 2008).

3.3. Carotenoides

3.3.1. Estrutura dos carotenoides

Os carotenoides têm a estrutura básica de tetraterpeno de quarenta carbonos, formado por oito unidades isoprenóides de cinco carbonos, ligados de tal forma que a molécula é linear e simétrica, com ordem invertida no centro (BOBBIO & BOBBIO, 2001). Os grupos metila centrais estão separados por seis carbonos, e os demais, por cinco. A característica principal nestas moléculas é o sistema extenso de duplas ligações conjugadas, responsáveis por suas propriedades e funções tão especiais (RODRIGUEZ-AMAYA, KIMURA & AMAYA-FARFAN, 2008) (Figura 3).

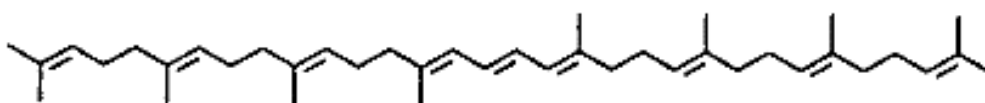
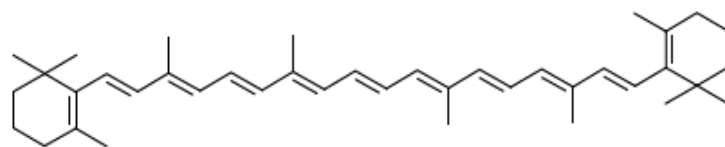


Figura 3. Estrutura de um carotenoide (fitoeno).

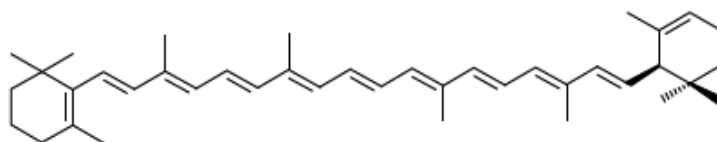
O esqueleto básico desta família de moléculas pode ser alterado de muitas maneiras, as quais abarcam ciclização, hidrogenação, desidrogenação, introdução de grupos contendo oxigênio, rearranjos, encurtamento de cadeias ou combinações dessas modificações, dando como resultado uma imensa variedade de estruturas (KULL & PFANDER, 1995; BOBBIO & BOBBIO, 2001).

3.3.2. Características dos carotenoides

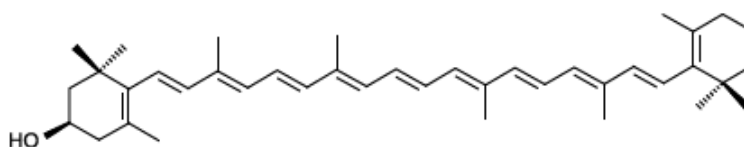
Os carotenoides são notáveis por possuírem uma ampla distribuição na natureza, estruturas químicas diversas e várias funções. São os pigmentos responsáveis pelas cores vermelho, amarelo e laranja, largamente distribuídos em frutas, flores, raízes, algas, invertebrados, peixes, pássaros, bactérias, fungos e leveduras e têm como principais funções o auxílio na fotossíntese e a fotoproteção (BRITTON, LIAAEN-JENSEN & PFANDER, 1995). Os carotenoides incluem 2 classes de compostos: carotenos propriamente ditos, compostos por hidrocarbonetos poliinsaturados C_{40} (Figura 4), e xantofilas, seus derivados oxigenados (Figura 5).



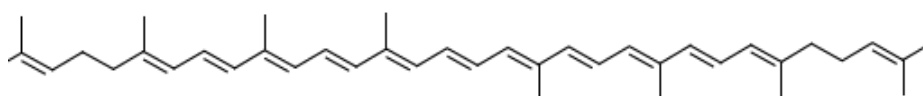
β -caroteno



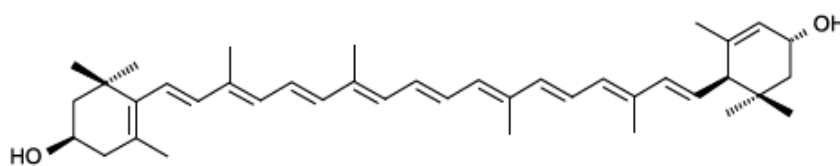
α -caroteno



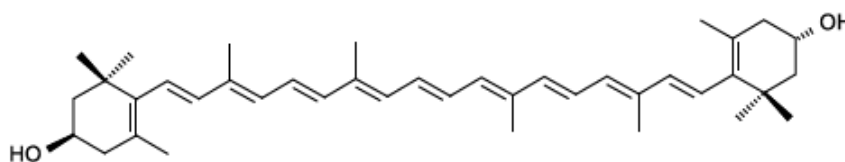
β -criptoxantina



licopeno



luteína



zeaxantina

Figura 4. Principais carotenoides (RODRIGUEZ-AMAYA, 2008).

Outros carotenoides como o fitoflueno e fitoeno são incolores e possivelmente mais amplamente distribuídos do que o reportado (BURRI, *et al.*, 2011).

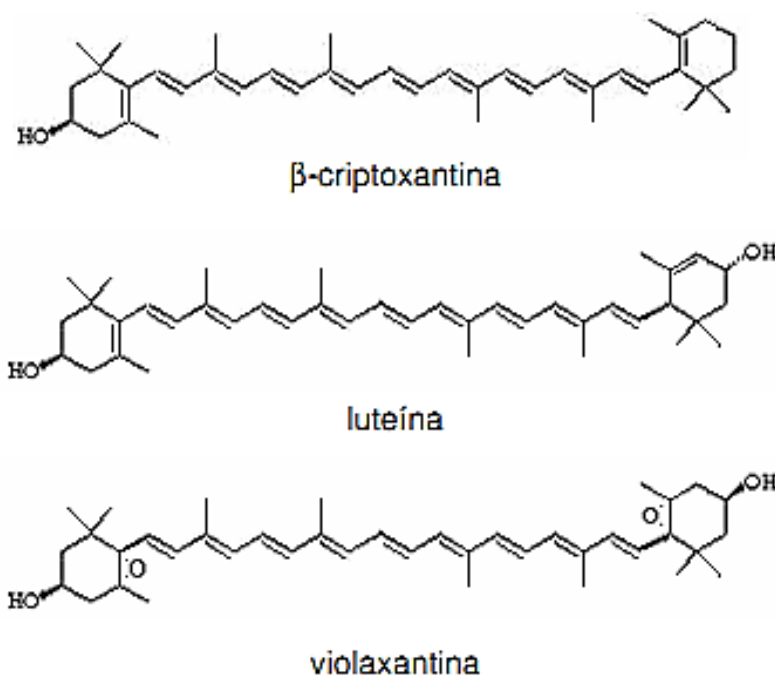


Figura 5. Algumas xantofilas (RODRIGUEZ-AMAYA, 2001).

Dentre os carotenos cíclicos, o que mais se destaca é o β -caroteno, presente em cenoura (*Daucus carota*), manga (*Mangifera indica*), acerola (*Malpighia glabra*), damasco (*Prunus armeniaca*), nêspera (*Mespilus germanica*) e frutos da família Palmae/Arecaceae. O α -caroteno e o γ -caroteno estão geralmente em menor concentração que o β -caroteno, sendo o primeiro encontrado em cenouras e abóboras (*Cucurbita* sp.), e o último em rosa silvestre (*Rosa canina*) e pitanga (*Eugenia uniflora*). O δ -caroteno é menos frequente, mas encontrado em tomate e pupunha (RODRIGUEZ-AMAYA, 2001).

Dentre as xantofilas hidroxiladas, as principais são derivadas do α - e β -caroteno, como a β -criptoxantina, luteína e zeaxantina. β -criptoxantina é o principal pigmento de frutos alaranjados, como pêsego (*Prunus persica*), caqui (*Diospyros kaki*) e cajá-mirim (*Spondias mombin*). Luteína é o carotenoide predominante em folhas, vegetais verdes e flores amarelas, e a zeaxantina é o principal no milho (*Zea mays*) e no piquiá (*Cariocar villosum*). As xantofilas epoxidadas como a violaxantina e a anteraxantina são os produtos da degradação de outros carotenoides, como a zeaxantina, e subestimadas nos alimentos, como a manga, por exemplo (RODRIGUEZ- AMAYA, 2001).

3.3.3. Biodisponibilidade dos carotenoides

A biodisponibilidade se define como a fração de um determinado nutriente, no caso, carotenoides, que pode ser aproveitado pelo organismo (AMBRÓSIO *et al.*, 2006).

A biodisponibilidade de carotenoides representa a medida quantitativa de sua absorção no organismo, disponível para exercer funções biológicas. Esta biodisponibilidade é afetada pelo tipo de matriz do alimento e outros fatores; esses fatores estão relacionados ao alimento ou ao organismo: digestibilidade, antioxidantes, outros nutrientes, processamento do alimento, tipo de carotenoide, fibras dietéticas solúveis, ineficiência de enzimas e fatores genéticos (RODRIGUEZ-AMAYA 2008).

As informações científicas acerca da biodisponibilidade de carotenoides baseiam-se, principalmente, na determinação dos níveis séricos, plasmáticos ou das frações lipoprotéicas após a ingestão desses. Outros métodos da determinação da biodisponibilidade dos carotenoides também são utilizados, como métodos de balanço, pelo qual o conteúdo de carotenoides ingeridos é medido nas fezes, medida dos carotenoides radioativos na linfa ou estudos cinéticos usando carotenoides isotopicamente marcados (AMBRÓSIO *et al.*, 2006).

Um conjunto de fatores exerce influência na biodisponibilidade dos carotenoides, tais como: tipos de carotenoides, ligação molecular, quantidade de carotenoides consumidos em uma refeição, matriz na qual os carotenoides são incorporados, fatores de absorção e bioconversão, estado nutricional do indivíduo, fatores genéticos e fatores inerentes ao indivíduo (RODRIGUEZ-AMAYA 2008).

3.3.4. Propriedades dos carotenoides

3.3.4.1. Solubilidade

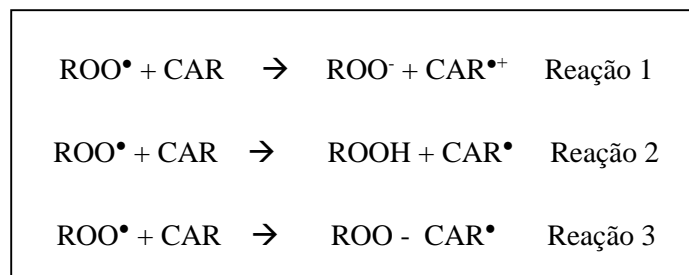
Os carotenoides são moléculas lipossolúveis e, sendo assim, solúveis em solventes orgânicos clássicos, como o éter de petróleo, metanol, sulfeto de carbono e acetona. No entanto são insolúveis na água, exceto quando se encontram formando complexos com proteínas (caroteno-proteínas). Os carotenoides aparecem dissolvidos nos lipídios e, em alguns casos, formando soluções coloidais (SAJILATA, SINGHAL, & KAMAT, 2008; VILLELA, 1976).

3.3.4.2. Antioxidante

Os carotenoides têm propriedades antioxidantes, sendo conhecidos por reagir com o oxigênio singlete, o qual é a forma altamente reativa do oxigênio molecular, já que apresenta dois elétrons de spins opostos ocupando orbitais diferentes ou não. Os carotenoides protegem as células de danos oxidativos provocados por radicais livres (são moléculas altamente reativos, que contém um ou mais elétrons desemparelhados nos orbitais externos, o/os quais formam um campo magnético e atraem qualquer composto situado próximo à sua órbita externa) e por espécies reativas de oxigênio (EROs) (constituem moléculas não radicalares derivadas do oxigênio, como peróxido de hidrogênio (H_2O_2) que podem ser gerados no citoplasma, nas mitocôndrias ou na membrana, atacando lipídios, proteínas, carboidratos e DNA (SHAMI & MOREIRA, 2004).

A proteção antioxidante é abastecida pelos carotenoides acíclicos, os quais possuem nove ou mais duplas ligações conjugadas; como o licopeno que é mais eficaz que o β -caroteno, pois possui onze duplas ligações conjugadas e cadeia acíclica, enquanto o β -caroteno possui nove duplas ligações conjugadas e cadeia cíclica nas extremidades (DI MASCIO, KAISER, & SIES, 1989; SHAMI & MOREIRA, 2004). Esses carotenoides são capazes de sequestrar espécies reativas de oxigênio, como o radical peroxil (ROO^\bullet) e o oxigênio singlete (1O_2) (FOOTE, CHANG, & DENNY, 1970; SAJILATA *et al.*, 2008), estabilizando o elétron desemparelhado do radical por ressonância. A ordem crescente de capacidade para sequestrar o oxigênio singlete por parte dos carotenos e xantofilas é: licopeno, astaxantina, β -caroteno, luteína e crocina (FONTANA, *et al.*, 2000).

Os carotenoides ao combaterem as espécies reativas do oxigênio, podem interagir de três maneiras diferentes: transferência de elétrons; remoção de íons de hidrogênio ou remoção de espécies radicalares, respectivamente, reações 1, 2 e 3 da Figura 6:



ROO^\bullet : radical; CAR.: carotenoides

Figura 6. Reação entre carotenoides e radicais livres (YOUNG & LOWE 2001).

Pool-Zobel *et al.*, (1997), dirigiram um estudo experimental com seres humanos, não-fumantes, com idade entre 27 e 40 anos, observaram que frutas, legumes e verduras, como espinafre, cenoura, tomate, possuem um efeito protetor contra o câncer, exercido pelos carotenoides, por meio da diminuição de lesões do DNA, identificadas tanto pela redução da oxidação das bases pirimídínicas do DNA, quanto pelo menor número de quebras da fita do DNA linfócito. Esse efeito também pode ser demonstrado por Porrini & Riso (2000), com suplementação com purê de tomate. Entre as décadas de 80 e 90, numerosos estudos retrospectivos (caso-controle) e prospectivos (coorte) realizado em vários países mostraram consistentemente uma forte associação inversa entre o consumo alimentar de β -caroteno, ou a sua concentração plasmática, e a incidência de câncer, particularmente, câncer de pulmão (VAN POPPEL & GOLDBOEHM 1995; BLOCK *et al.*, 1992). Essa reação inversa também foi observada com a incidência de doenças cardiovasculares (GAZIANO, 1993).

3.3.4.3. Cromóforo

Para que haja a produção de cor, um carotenoide precisa ter pelo menos, sete duplas ligações conjugadas. Os carotenos que possuem três e cinco duplas ligações conjugadas como o fitoeno e o fitoflueno são considerados carotenoides sem cor. Nos carotenoides, a cor pode variar do incolor até o vermelho (FRANCIS, 1986). Os carotenoides incolores absorvem na região ultravioleta, abaixo de 350 nm a 400 nm (VILLELA, 1976).

A variação da cor dos carotenoides ocorre à medida que o número de duplas ligações é maior, pois há um deslocamento no espectro de absorção da molécula, pelo tanto, a capacidade de absorver a luz visível depende da estrutura da molécula

(VILLELA, 1976). Os comprimentos de onda máximos de absorção variam na faixa de 410 a 510 nm (FONTANA *et al.*, 2000).

3.3.4.4. Isomerização

Os isômeros *cis* são menos estáveis termicamente do que os *trans*. Portanto, a maior parte dos carotenoides ocorrem na natureza na forma *todo-trans* (BRITTON, 1995).

O calor, os ácidos, a luz, o oxigênio e as enzimas, como lipoxigenases, são agentes que provocam alteração nos carotenoides, resultando a formação de isômeros *cis*, epóxidos, diminuição da cor, perda de atividade pró-vitamina A e a quebra da cadeia com formação de apocarotenoides (carotenoides com menos de 40 átomos de carbono) (LOPES *et al.*, 2002; MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, VACARIO & HEREDIA, 2004). Os *trans* carotenos podem transformar-se em *cis* carotenos pelo processamento de alimentos, tais como: cocção, desidratação e trituração (RODRIGUEZ-AMAYA E AMAYA FARFAN, 1992).

O isômero *cis* é mais polar, portanto menos solúvel em óleos e solventes hidrocarbonados, e também se cristaliza menos. Além disso, o isômero *cis* tem menor atividade pró-vitamina A que a forma *trans*, sendo, portanto, muito importante evitar a formação do isômero *cis* durante o processamento de alimentos ricos em carotenoides (MELÉNDEZ-MARTINEZ, VACARIO & HEREDIA, 2004).

3.3.4.5. Oxidação

A oxidação é a causa principal da degradação dos carotenoides em alimentos. Estes compostos são facilmente oxidados em função do grande número de duplas ligações conjugadas. No tecido intacto, os pigmentos estão protegidos da oxidação; entretanto, danos físicos aos tecidos ou a sua extração aumentam a sua suscetibilidade à oxidação. Os carotenoides podem sofrer oxidação na presença de luz, calor e compostos pró-oxidantes. Devido a sua estrutura insaturada e conjugada, os produtos de sua degradação são muito complexos. Uma autooxidação intensa irá resultar na quebra dos pigmentos e descoloração (RIBEIRO & SERAVALLI, 2004; MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, VACARIO & HEREDIA, 2004).

A causa fundamental de perda dos carotenoides durante a análise é a degradação oxidativa. A oxidação natural de carotenoides depende da sua estrutura, sendo os mais facilmente oxidáveis o δ -caroteno, luteína e violaxantina. Ao final da oxidação ocorre a perda total da cor e da atividade biológica, pois podem ser formados apocarotenoides; por exemplo, na degradação do β -caroteno são formados β -apo-10'-carotenal e β -apo-8'-carotenal (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999).

3.3.4.6. pH

Os carotenoides são estáveis na faixa de pH da maioria dos alimentos (pH de 3,0 a 7,0) (RIBEIRO & SERAVALLI, 2004). Porém, alguns carotenoides não são relativamente resistentes a alguns valores extremos de pH (ácidos e álcalis), podendo sofrer isomerização *cis/trans* de certas duplas ligações. Isto ocorre maiormente na manipulação em laboratórios com fins analíticos. Por exemplo, algumas xantofilas são instáveis em meio alcalino e os epóxi-carotenoides são instáveis em meio ácido (MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, VACARIO & HEREDIA, 2004).

3.3.5. Função dos carotenoides

Nas indústrias de alimentos, os carotenoides são utilizados como corantes, com o objetivo de repor a cor perdida durante o processamento e armazenagem, colorir os alimentos incolores e uniformizar a coloração de alguns produtos alimentícios. Mais atualmente, com o crescente interesse pela saúde, os carotenoides também têm sido adicionados aos alimentos devido às suas atividades biológicas, a fim de enriquecer o produto alimentar (MAI *et al.*, 2013; BHOSLE & SUBRAMANIAN 2005).

Os carotenoides desempenham alguns papéis básicos na saúde humana, sendo essenciais para a visão devido à sua atividade de pró-vitamina A. O β -caroteno, α -caroteno e a β -criptoxantina, são pró-vitaminas A. Basicamente, a estrutura da pró-vitamina A (retinol) é a metade da molécula do β -caroteno, com um grupo hidroxila adicionada ao final da cadeia poliênica. Consequentemente, o β -caroteno é o carotenoide de maior potência vitamínica A e ao qual se atribui 100% de atividade. A exigência mínima para um carotenoide possuir atividades vitamínica A é ter um anel β substituído, com uma cadeia poliênica de 11 carbonos. Assim, o α -caroteno e a α -criptoxantina, têm cerca de 50 % da atividade do β -caroteno, ao passo que a luteína, zeaxantina e licopeno não possuem atividade (RODRIGUEZ-AMAYA 2008).

Entretanto, outros mecanismos de ação dos carotenoides contra as doenças crônicas foram relatados, tais como a modulação do metabolismo de substâncias cancerígenas, inibição da proliferação celular, realce da diferenciação celular, estimulação da comunicação intercelular e filtragem da luz azul (STAHL, ALE-AGHA & POLIDORI, 2002).

Devido à grande ênfase dada à atividade antioxidante como modo de ação contra doenças, a capacidade antioxidante dos alimentos tem sido largamente determinada *in vitro*, por vezes correlacionada às concentrações das substâncias bioativas nos alimentos, de forma a predizer o seu efeito na saúde humana. Os antioxidantes, entretanto, possuem diversos modos de ação, e os métodos que determinam a atividade antioxidante medem diferentes ações e são determinados sob diferentes condições (RODRIGUEZ-AMAYA 2008). CAVALCANTE *et al.*, (2006) estudaram a atividade antioxidante de compostos fenólicos, carotenos e vitamina C, presentes em suco de caju e cajuína, pelo teste de varredura do radical DPPH, pela sua capacidade de doar hidrogênio, constatando que, tanto o suco de caju, quanto à cajuína apresentaram boa atividade antioxidante, devido à ação combinada desses compostos.

3.3.6. Biossíntese de carotenoides

Os carotenoides são sintetizados somente pelas plantas e por microrganismos, sendo as plantas as maiores fontes de carotenoides, os quais são responsáveis por conferir as cores características das frutas, como morango, laranja, maracujá e caju (BOBBIO & BOBBIO 2001).

Os carotenoides acumulam-se em cloroplastos de todas as plantas verdes como uma mistura de α e β carotenos, β -criptoxantina, luteína, zeaxantina, violaxantina e neoxantina, estando complexadas não-covalentemente com proteínas. Os carotenoides também se encontram em microrganismos, nos quais são sintetizados pela rota metabólica dos isoprenóides (RIBEIRO 2008).

A biossíntese dos carotenos inicia-se com um precursor primário, representado pelo acetato, que segue o processo da biogênese de esteróis até as unidades isoprenóides ativas: isopentenil-pirofosfato (C5), geranyl pirofosfato (C10) e farnesil pirofosfato (C15), a partir daí, diversificam-se os carotenos produzidos (VILLELA *et al.*, 1976). A primeira etapa da biossíntese do carotenoide envolve a formação de geranylgeranyl pirofosfato e a

sua conversão em fitoeno, através da ação da enzima fitoeno esterase. Esse primeiro caroteno não apresenta coloração. Através de uma série de desidrogenações, outros carotenos são formados (MALDONADE, 2003).

Após a formação do licopeno, ocorre a ciclização através do licopeno ciclase, podendo gerar δ -caroteno (anel ϵ) ou γ -caroteno (anel β), que são os antecessores do α -caroteno e do β caroteno, respectivamente. Estes carotenos formados podem ser alterados para geração de outros carotenoides como luteína e zeaxantina (Figura 7) e outras xantofilas, através de hidroxilases, epoxidases, cetolases e sintases (MALDONADE, 2003).

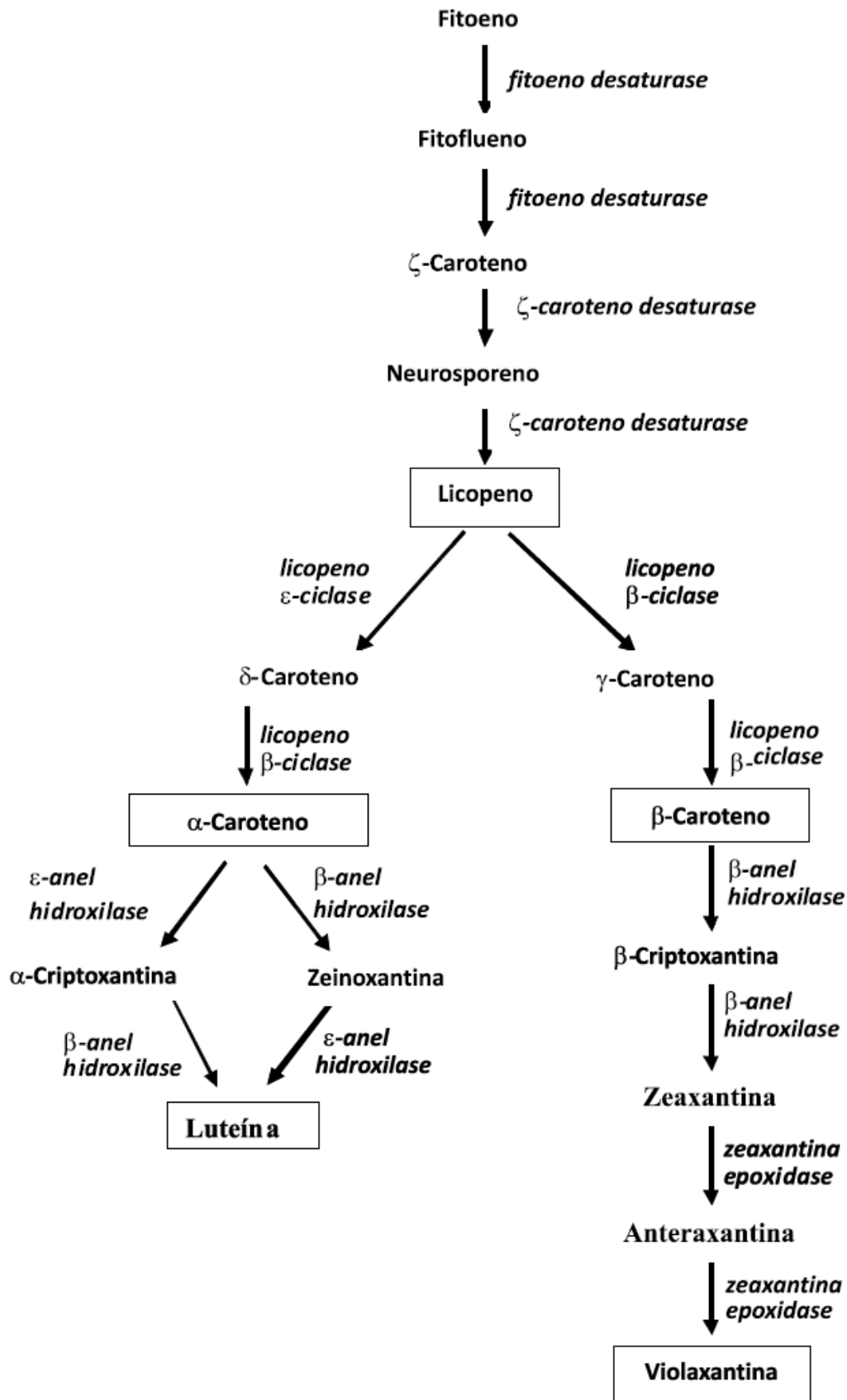


Figura 7. Últimas etapas da biossíntese de carotenoides. Os carotenoides principais em alimentos encontram-se destacados (RODRIGUEZ-AMAYA 2008).

3.4. Tocoferóis e Tocotrienóis

Os tocoferóis são antioxidantes naturais que têm atuação sob os radicais livres. Sua presença no óleo é altamente importante (O'BRIEN, 2004), porém, em alguns casos, o processo de desodorização é delineado de forma a recuperá-lo no destilado. Possuem atividade de vitamina E sendo divididos em dois grupos: tocoferóis e tocotrienóis (Figura 8).

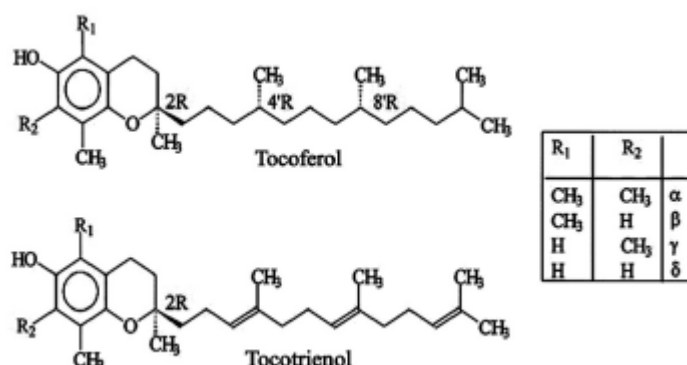


Figura 8. Estrutura de tocoferóis e tocotrienóis (O'BRIEN, 2004).

Anteriormente a atividade biológica dos isômeros de tocoferol era dada pelo teste de reabsorção fetal em ratos, mas com o reconhecimento da seletividade dos isômeros através da ação da proteína de transferência do α -Tocoferol (α -TTP), hoje em dia determina-se o requerimento para humanos usando o isômero α -Tocoferol. Assim, a atividade biológica in vivo é diferenciada para cada isômero, sendo α -T > β -T > γ -T > δ -T, podendo variar sua atividade e proporção nas diferentes matrizes biológicas (EITENMILLER & LEE, 2004).

Os compostos da família da vitamina E oferecem benefícios à saúde humana, tendo como função eficaz o transporte de elétrons para dentro das mitocôndrias no sistema fisiológico (ABIDI, 2000). Atuam como antioxidantes lipossolúveis, protegem as membranas celulares de radicais e espécies mutagênicas. É importante o consumo de alimentos que contenham antioxidantes para a proteção contra processos degenerativos (O'BRIEN, 2004)

Na natureza, os tocoferóis estão em óleos de cereais e sementes, frutos, vegetais e grãos em geral. São encontrados também nos alimentos nas margarinas e derivados,

molhos, sobremesas e acompanhamentos. Na dieta de humanos e animais, todas as formas de vitamina E estão presentes, destacando-se o α -tocoferol, que é o principal isômero na dieta e o γ -tocoferol, que atualmente tem apresentado potente efeito antioxidante (ESKIN & SNAIT, 2006).

3.5. Compostos fenólicos

Existem diversas pesquisas sob separação, identificação, quantificação e utilização dos compostos fenólicos em alimentos, mas tem enfrentado muitos problemas metodológicos, já que os compostos fenólicos englobam uma gama enorme de substâncias (fenóis simples, ácidos fenólicos, cumarinas, flavonóides, taninos e ligninas) e na maioria das vezes, estas substâncias têm grande polaridade, muito reativos, e suscetíveis à ação de enzimas (KIOKIAS & OREOPOULOU 2006).

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

Os ácidos fenólicos são algumas das substâncias que compõem o grupo dos compostos fenólicos. Caracterizam-se por terem um grupamento carboxílico um anel benzênico e um ou mais grupamentos de hidroxila e/ou metoxila na molécula, conferindo propriedades antioxidantes tanto para os alimentos como para o organismo, sendo, por isso, indicados para a prevenção do câncer, doenças cardiovasculares (ABE *et al.*, 2007; MOREIRA *et al.*, 2013). Na Figura 9 são apresentadas as estruturas de alguns ácidos fenólicos.

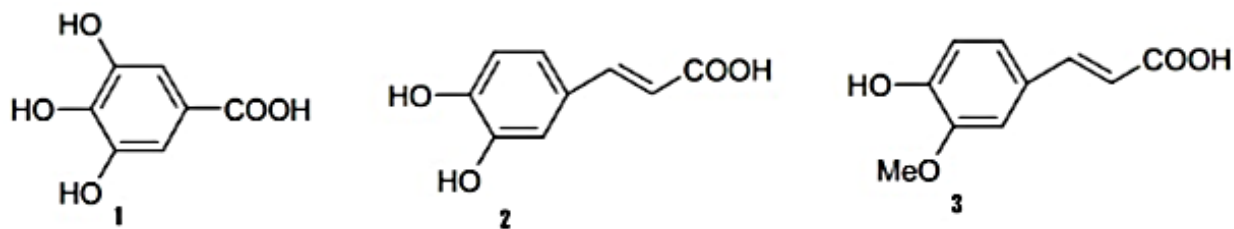


Figura 9. Estruturas de ácidos fenólicos: 1) gálico 2) caféico 3) ferrúlico.

3.6. Composição da parede celular

As paredes celulares são responsáveis pela resistência e rigidez dos tecidos vegetais, mas não são uniformes, ao mesmo tempo, tem a habilidade de se expandir durante os períodos de crescimento. Além de servir como suporte à estrutura das células, desempenha funções importantes, como absorção e transporte de água e minerais, secreções, atividade enzimática entre outras (CHITARRA & CHITARRA, 2005).

A parede celular é composta de várias camadas e diferentes macromoléculas, sendo responsável pelas características de textura dos frutos. A lamela média é a camada mais externa que faz a coesão entre as células e, por isso, é designada como cimento celular, sendo composta principalmente de pectinas. A parede celular primária se localiza após a lamela, consiste de microfibrilas de celulose embebidas numa matriz amorfa composta de hemiceluloses, pectina e proteínas. A parede celular secundária liga-se imediatamente ao lado de dentro da parede primária, consiste de microfibrilas de celulose embebidas em matriz amorfa de hemicelulose e lignina (extensiva) (Figura 10) (CHITARRA & CHITARRA, 2005).

Pode-se dizer que a parede celular contém quatro principais componentes: celulose, polissacarídeos não celulósicos, proteínas e polifenóis (CARPITA *et al.*, 2001; RAVEN, 2001). A chave da atividade enzimática para abrir as paredes e liberar o óleo, baseia-se na degradação de vários polissacarídeos complexos encontrados nas paredes celulares das plantas (TURATTI, 1999).

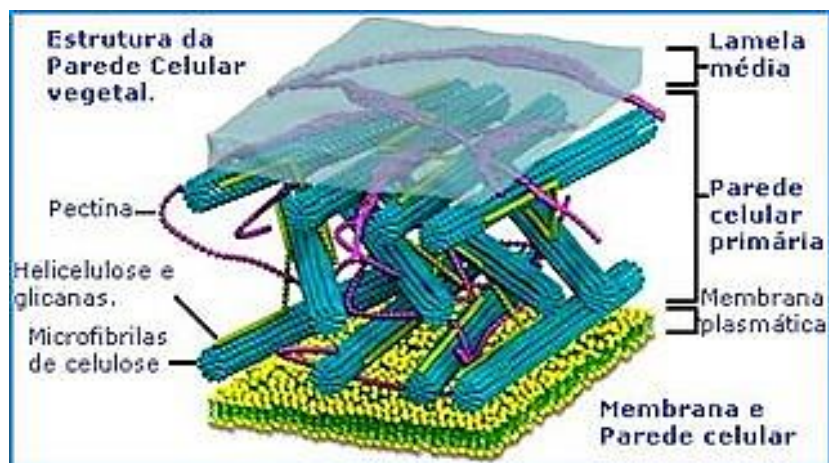


Figura 10. Estrutura da parede celular da célula vegetal (SIGMA-ALDRICH, 2010).

As macromoléculas glicosídicas de alto peso molecular chamadas substâncias pécnicas formam o maior componente da lamela média, uma fina camada de material adesivo extracelular entre as paredes primárias das células vegetais superiores (ALKORTA *et al.*, 1998). Quimicamente são complexos coloidais de polissacarídeos ácidos, compostos de resíduos de ácido galacturônico unidos por ligações α -1,4, parcialmente esterificados por grupos metil éster e parcial ou completamente neutralizadas por uma ou mais bases (KASHYAP *et al.*, 2000).

Os lipídeos unidos às proteínas compõem um complexo macromolecular na parte interna de células vegetais e animais. Essas estruturas estão ligadas tanto às membranas como aos lipídeos armazenados nas células vegetais. Por exemplo, a família caleosina inclui algumas isoformas que são os maiores componentes dos óleos armazenados em sementes enquanto outra isoforma similar está ligada à membrana em que é responsável pela resistência mecânica ao estresse, à secagem e à salinidade (MURPHY, 2005).

3.7. Tecnologias para extração de carotenoides

O β -caroteno de origem vegetal é geralmente obtido por extração com solventes de cenoura e dendê, com conteúdo menores de α -caroteno, γ -caroteno e algumas xantofilas. Mas outras fontes vegetais têm sido encontradas com grande potencial para produção de β caroteno, como visto na Tabela 3.

Tabela 3. Potenciais fontes vegetais produtoras de β -caroteno (<http://www.fao.org/>, 2013).

Fontes Vegetais	Carotenoides ($\mu\text{g/g}$)	β -caroteno (%)	Referências
Cenoura (<i>Daucus carota</i>)	85 – 174	49 -65	Rodriguez-Amaya, 2001
Dendê (óleo) (<i>Elaeis guineensis</i>)	470 – 700	54,4	Rodriguez-Amaya, 2001
Batata doce (<i>Ipomoea batatas</i>)	160 – 226	92 – 95	Rodriguez-Amaya, 2001
Buriti (fruto) (<i>Mauritia vinifera</i>)	513,9	72,5	De Rosso & Mercadante, 2007
Buriti (óleo)	1150 - 3380		Rodriguez-Amaya, 2001
Acerola (<i>Malpighia glabra</i>)	8,8 - 18,8	69,8 – 90,6	De Rosso & Mercadante, 2007
Tucumã (<i>Astrocaryum aculeatum</i>)	62,6 – 96,6	75,6 – 89,3	Marinho & Castro, 2003; De Rosso & Mercadante, 2007
Marimari (<i>Geoffrola striata</i>)	38	61,1	De Rosso & Mercadante, 2007
Physalis (<i>Physalis angulata</i>)	80,9	76,9	De Rosso & Mercadante, 2007
Acuri (<i>Scheelea phalerata</i>)	22,7	76,2	Hiane <i>et al</i> , 2003
Pajurá (<i>Couepia bracteosa</i>)	17,8	92,1	Marinho & Castro, 2003
Piquiá (<i>Caryocar villosum</i>)	21	85,4	Marinho & Castro, 2003
Umari (<i>Poraqueiba sericea</i>)	102,9	78,9	Marinho & Castro, 2003
Bocaiúva (<i>Acrocomia mokayaba</i>)	59,6	92,3	Rodriguez-Amaya, 1996

Várias outras tecnologias estão sendo estudadas, além da extração por solventes, para recuperação de carotenos de matrizes, como óleo de palma. França & Meirelles (1997) estudaram a extração com fluido supercrítico dos carotenoides de óleo de palma retido na torta de prensagem, enquanto Mustapa et al, (2011) reportaram a utilização de CO_2 supercrítico na extração de carotenoides do fruto de buriti. Nestes trabalhos apesar de extraírem até 10000 ppm de carotenoides, também são obtidos triglicerídeos e ácidos graxos.

Algumas modificações foram propostas por Chuang & Brunner (2006) neste processo de extração com extração com fluido supercrítico para contornar sua baixa seletividade. Os autores utilizaram a transesterificação do óleo de palma e em seguida a extração em três etapas obtendo um produto 200 vezes mais concentrado em carotenoides, praticamente ausente de ésteres, ácidos graxos e triglicerídeos. Todavia, na temperatura utilizada (60 °C) e dada a presença de O_2 no CO_2 supercrítico, condições que auxiliam a degradação dos carotenoides, é necessária a adição de antioxidantes (BHT) ao processo (COCERO *et al.*, 2000).

A transesterificação também é utilizada como pré-etape no processo de destilação molecular, onde os carotenoides são o resíduo do processo, alcançando até 24000 ppm de

carotenoides, com perdas de até 14%, a 210 °C em destilador centrífugo com tempo de residência em torno de 50s (BATISTELLA & WOLF-MACIEL 1998), ou então em um destilador em filme descendente em duas etapas, obtendo 80000 ppm de carotenoides, com perdas de 25%, mas sem alteração significativa no seu perfil (OOI *et al.*, 1994).

O processo de separação por membranas, que inicialmente era realizado para degomagem de óleos vegetais, foi testado também para recuperação de carotenoides utilizando-se membranas densas poliméricas, mas na realidade este processo é bastante efetivo na separação das xantofilas e clorofila, além dos fosfolípidos, com retenção entre 80 e 100%, produzindo um óleo rico em carotenos (ARORA *et al.*, 2006; SUBRAMANIAN *et al.*, 2001). Este processo, apesar de positivo na concentração unicamente de carotenos, apresenta a necessidade de uma etapa adicional de hidrólise ou transesterificação.

A hidrólise enzimática também foi testada como pré-tratamento para facilitar a recuperação de carotenoides podendo substituir com êxito a hidrólise alcalina, sem perdas por degradação e isomerização dos mesmos (OVANDO-CHACÓN & WALISZEWSKI 2005).

Lietz & Henry (1997) testaram a hidrólise do óleo de palma utilizando a lipase de *Candida rugosa* em uma concentração de 10% p/v óleo solubilizado em tampão fosfato 0,08M, mantendo a relação de óleo e solução aquosa em 1/175, e agitação em atmosfera de N₂, a 35 °C, durante 4 horas. Os autores obtiveram um rendimento de 96% em ácidos graxos, mantendo inalterada a concentração de carotenoides. Resultado similar foi alcançado por Fernandez *et al.*, (2000), que apenas modificaram a relação de óleo e solução aquosa para 1/350, mostrando que também nessas condições a quantidade de carotenoides se manteve praticamente constante e igual a 330 ppm, enquanto que a saponificação alcalina promoveu a redução em 15% no teor de carotenoides. Segundo os autores, a redução era ainda maior quando o sabão formado era removido por filtração.

You *et al.*, (2002) utilizaram também óleo de palma e lipase de *Candida rugosa*, mas em condições diferentes. Neste trabalho, a quantidade de enzima empregada foi de 1% p/v, substituindo o tampão fosfato por água, alterando a relação óleo/água para 1/1, e aumentando a temperatura para 50 °C e o tempo reacional para 24 h. Os autores obtiveram

um rendimento de 94% em ácidos graxos e uma redução no teor de carotenoides da ordem de 15%, provavelmente devido à temperatura empregada.

3.7.1. Extração enzimática

As enzimas são um grupo de substâncias orgânicas de natureza proteica que são capazes de acelerar as reações químicas. Estão presentes nos nossos processos vitais, tais como digestão alimentar, degradação de compostos, entre diversos outros (OGEDA, 2010).

Na maioria das vezes, os processos de extração de óleo comestível envolvem etapas de extração com solventes, em sua maioria tóxicos, como é o caso do hexano. Com a extração enzimática são obtidos rendimentos maiores de até 95% de massa de óleo presente em oleaginosas, porém, vem crescendo o interesse internacional por processo que não envolvam materiais poluentes tóxicos (SANTOS & FERRARI, 2005).

Neste cenário surge o estudo de processos aquosos, tendo em conta que o mesmo utiliza uma metodologia mais limpa. A extração aquosa-enzimática é um processo bastante interessante, principalmente para materiais úmidos ou polpas úmidas de frutos, no qual a água é utilizada como meio de transferência do óleo. A polpa é triturada, diluída com água e as enzimas são adicionadas para romper a parede celular e liberar o óleo. A temperatura de processo é baixa, de (40 - 70 °C) em geral, e próxima à temperatura ótima de atividade das enzimas. Outra vantagem é que esse procedimento diminui os riscos de incêndios, além de poder ser realizado o isolamento de proteínas e a extração de óleo ao mesmo tempo. Porém, este processo inovador apresenta algumas desvantagens, como menor eficiência de extração quando comparado à extração química, dificuldades de separação de fases e tratamento de água residual (KALIA *et al.*, 2001).

A partir das observações feitas vários estudos vêm sendo realizados no país, a fim de viabilizar a utilização de enzimas em processos industriais. Pesquisas de utilização de enzimas na extração de óleos vegetais têm sido publicados (ROSENTHAL *et al.*, 2001; DE FAVERI *et al.*, 2008; NAJAFIAN *et al.*, 2009; SANTOS & FERRARI 2005; PASSOS *et al.*, 2009, SOTO *et al.*, 2006; GOMES *et al.*, 2002; SHANKAR *et al.*, 1997).

O uso de enzimas de maceração aumenta a extração de agentes antioxidantes e de vitamina E em óleo de oliva extra virgem, reduz a indução ao ranço, aumenta a extração,

melhora o fracionamento na centrifugação e produz óleo com baixo teor de umidade (BHAT, 2000).

Estudos sobre extração enzimática das sementes de Moringa foram realizadas por Abdulkarim *et al.*, (2005). Após estudos preliminares, concluiu-se que a enzima que melhor se adéqua a este tipo de semente é a neutronase 0.8L. Com a utilização desta enzima foram alcançados os maiores valores de recuperação do óleo presente nas sementes. Foi obtido um óleo com melhor qualidade em comparação ao óleo extraído por solventes, principalmente em relação ao índice de iodo, ácidos grãos livres e materiais não saponificáveis.

Shah *et al.*, (2003) estudaram a possibilidade de extração enzimática do óleo de canola combinando agitação ultrassônica enzimática. A agitação ultrassônica funciona como pré-tratamento, antes da extração aquosa. O pH ótimo foi de 9, utilizando uma protease, sendo alcançado rendimentos de 74%.

Também foram realizados estudos para a extração de óleo de amendoim utilizando Alcalase 2.4L. Além do óleo de amendoim, também foram isoladas proteínas ricas em pequenos peptídeos, que podem ser usados na indústria de alimentos, cosméticos e fármacos. O processo otimizado foi obtido com o pH 9,5, tempo 90 min, 60 °C, 1,5% de catalizador em relação a massa das sementes, razão de água 1:5, sendo atingidos rendimentos de 79% (JIANG *et al.*, 2010).

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 (celulases, hemicelulases, pectinases, amilases e proteases).

3.7.1.1. Celulase

A classificação das celulases, de acordo com seu local de atuação no substrato celulósico, as divide em três grandes grupos: endoglucanases (EnG), que clivam ligações internas da fibra celulósica; exoglucanases (ExG), que atuam na região externa da celulose; e b-glicosidases (BG), que hidrolisam oligossacarídeos solúveis em glicose (OLSSON, 1996).

As endoglucanase, que está classificada como EC 3.2.1.4, possui como nome sistemático, 1,4- β -D-glucana-4-glucanohidrolase. É a enzima responsável por iniciar a hidrólise. A qual hidrolisa randomicamente as regiões internas da estrutura amorfa da fibra celulósica, liberando oligossacarídeos de diversos graus de polimerização (GP) e novos terminais (OLSSON, 1996). A EnG é a enzima celulolítica responsável pela rápida solubilização do polímero celulósico, devido à sua fragmentação em oligossacarídeos (FRACHEBOUD & CANEVASCINI, 1989).

O grupo das exoglucanases (ExG) é constituído por celobiohidrolase (CBH) e glucano-hidrolase (GH).

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

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

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

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

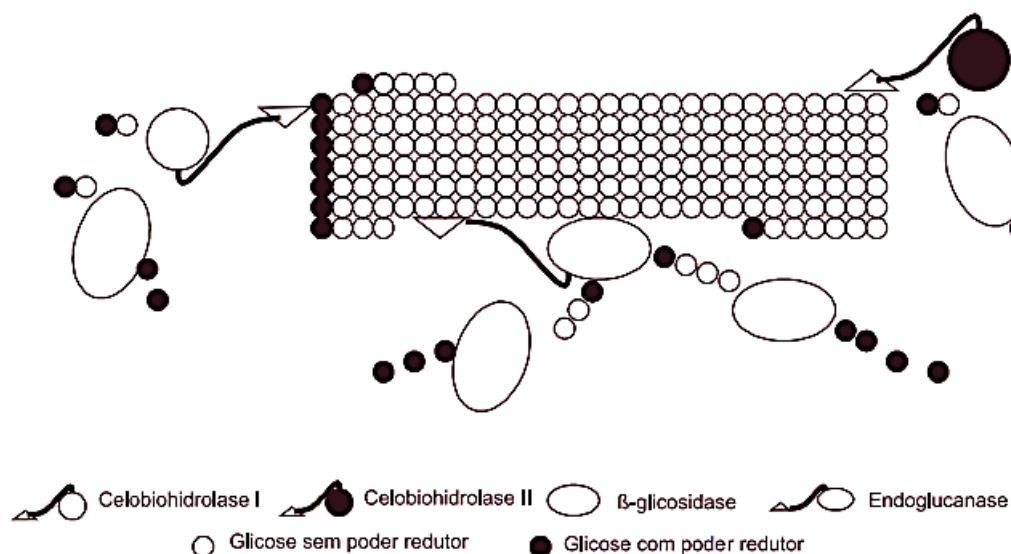


Figura 11. Modo de ação das enzimas do complexo celulolítico (CASTRO & PEREIRA JR, 2010).

3.7.1.2. Pectinase

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

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

A continuação vai se mostrar a classificação das pectinases com base no ataque ao esqueleto galacturônico, preferência ao substrato, ação por transeliminção ou hidrólise e por clivagem randômica ou terminal (Figura 12):

- a) Desesterificante ou desmetoxilante: removem os grupos metil-éster, como, por exemplo, a pectinoesterase (PE);
- b) Despolimerizantes: catalisam a clivagem das ligações glicosídicas das substâncias pécnicas, como por exemplo, hidrolases (polimetagalacturonases e poligalacturonases) e as liases (pectina liase) (SANTI *et al.*, 2014).

As hidrolases são:

- Polimetilgalacturonases (PMG): hidrolisa polimetil-galacturonatos a oligometilgalacturonatos pela separação das ligações α (1 \rightarrow 4), podendo ser endo- ou exo-PMG.
- Poligalacturonases (PG): (EC 3.2.1.15), hidrolisam ligações glicosídicas α (1 \rightarrow 4) entre dois unidades de ácido galacturônico. É a maior enzima com função hidrolítica, podendo apresentar ação endo- (hidrólise randômica) ou exo- (hidrólise seqüencial) do ácido péctico. As exo-p oligalacturonases são subdivididas em Exo-PG-1 (EC 3.2.1.67), que hidrolisa as ligações sucessivas do ácido poligalacturônico a partir da extremidade não redutora, liberando ácidos galacturônicos livres e Exo-PG-2 (EC 43 3.2.1.82), que hidrolisa as ligações alternadas do ácido poligalacturônico a partir da extremidade não redutora, liberando ácidos digalacturônicos livres (UENOJO & PASTORE, 2007).

As Liases são:

- Pectina-liase (PMGL): pectina liase, polimetilgalacturonato liase ou PMGL (EC 4.2.2.10) catalisa a β -eliminação entre dois unidades de ácido galacturônico mais ou menos esterificados, sem absorção de água. Quebram as ligações por transeliminação do hidrogênio dos carbonos das posições 4 e 5 da porção aglicona do substrato (pectina) de modo endo- ou exo- (MARTOS *et al.*, 2013).
- Pectato liase (PGL): poligalacturonato liase catalisa a separação de ligações α (1 \rightarrow 4) de ácido péctico, de modo endo- ou exo-, por trans-eliminação, requer Ca^{2+} para atividade. São subdivididas em Exo-Pectato-Liase (EC 4.2.2.9), que hidrolisa as ligações do ácido poligalacturônico a partir da extremidade não redutora, liberando principalmente ácidos digalacturônicos insaturados livres e Endo-Pectato-Liase (EC 4.2.2.2), que hidrolisa as ligações internas do ácido poligalacturônico, liberando oligogalacturonatos insaturados livres (UENOJO & PASTORE, 2007).

c) Protopectinases: solubilizam a protopectina para formar pectina.

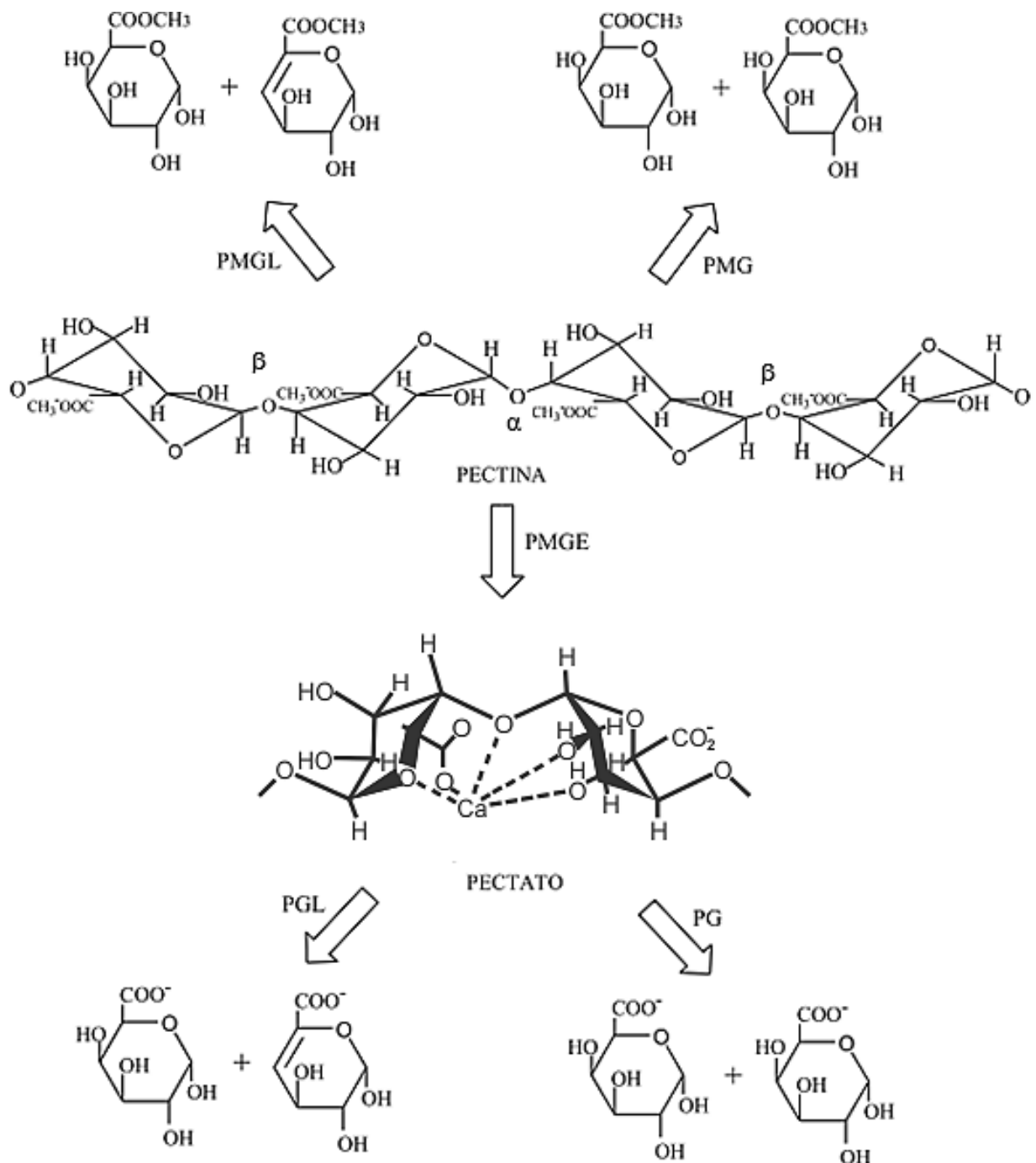


Figura 12. Modo de ação enzimática das pectinases em uma molécula de pectina. PMGL: polimetilgalacturonato liase; PMG: polimetilgalacturonase; PMGE: polimetilgalacturonato esterase (pectina esterase); PG: poligalacturonase (Adaptada de UENOJO & PASTORE, 2007).

3.7.1.3. Proteases

As proteases (EC 3.4) pertencem ao grupo das hidrolases que catalisam a reação de hidrólises das ligações peptídicas das proteínas e podem apresentar atividade sob as ligações éster e amida (KOBBLITZ, 2010). Estudos mostraram que as proteases conduzem modificações seletivas específicas em proteínas e na maioria dos casos, a proteólise é direcionada e limitada à clivagem de ligações peptídicas específicas da proteína (BEYNON & BOND, 1996; RAO, 1998).

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

As proteases constituem um dos grupos mais importantes de enzimas industriais que são utilizados em grande variedade de processos industriais: detergentes, alimentos, produtos farmacêuticos, couro e seda. Com a exceção de utilizações farmacêuticas, a indústria dos detergentes tem emergido como um dos grandes consumidores de enzimas hidrolíticas (KOBBLITZ, 2010).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Processo de extração do óleo

O trabalho foi realizado de acordo com o processo de extração apresentado no fluxograma da Figura 13:

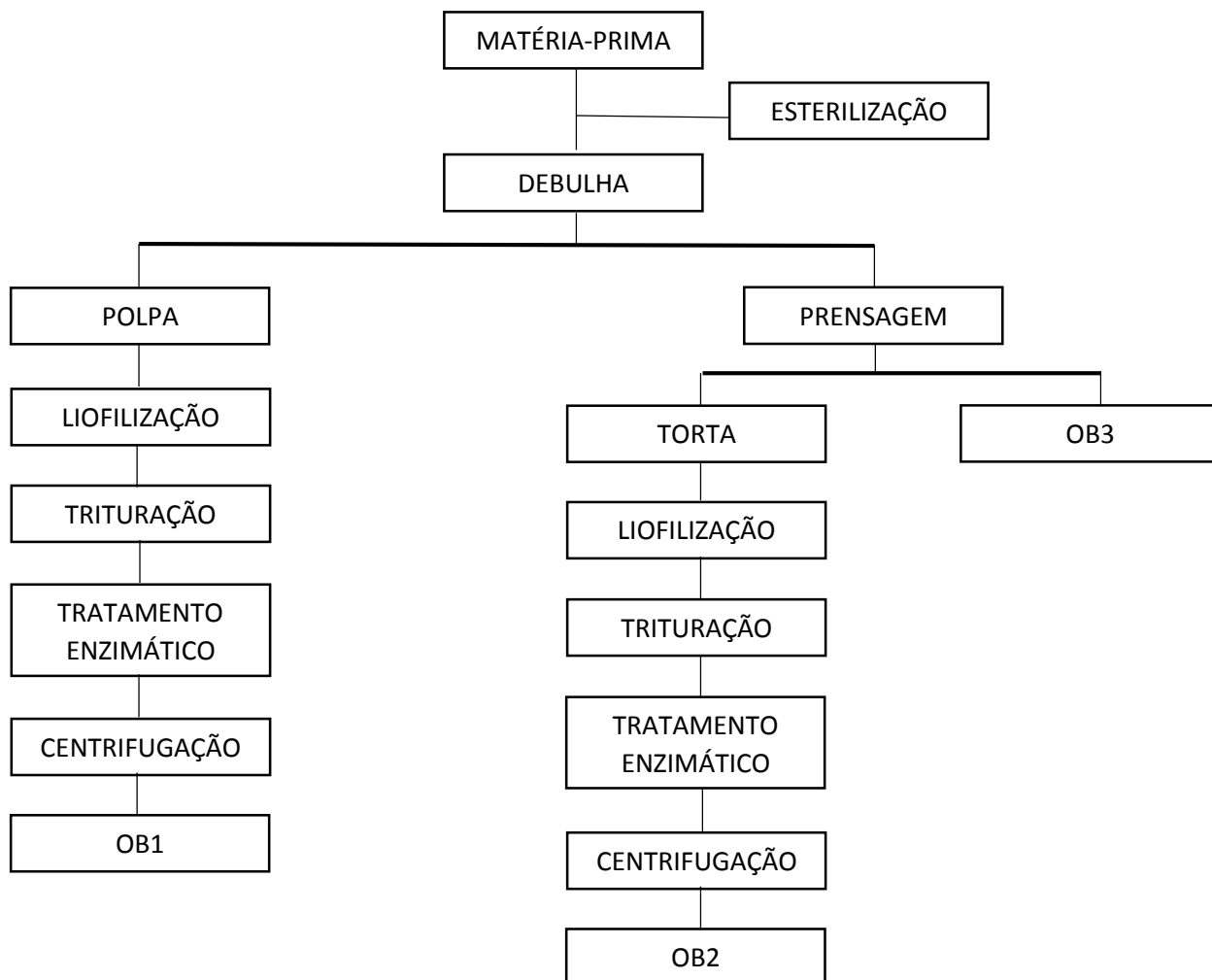


Figura 13. Fluxograma de processamento da amostra (OB1 = óleo bruto 1, OB2 = óleo bruto 2 e OB3 = óleo bruto 3).

Todos os experimentos realizados no presente trabalho utilizaram frutos doados pela empresa AGROPALMA (Figura 14). Esses frutos foram esterilizados, debulhados e submetidos a dois tratamentos diferentes com a finalidade de obter o óleo: a) liofilizados, triturados e armazenados e b) prensados, liofilizados, triturados e armazenados no Laboratório de Medidas Físicas da FEA/UFPA em Belém-PA, para a realização dos experimentos.



Figura 14. Dendê in natura.

4.1.1. Esterilização

Após a recepção dos cachos, estes foram submetidos à etapa de esterilização, em temperatura de 125 °C por 5 minutos. Os objetivos dessa etapa foram: facilitar a debulha manual dos frutos; inativar as enzimas lipases, peroxidases, polifenoloxidasas e lipoxigenases responsáveis pela hidrólise dos triacilgliceróis, oxidação de polifenóis e carotenos dos frutos frescos, além de facilitar a extração.

4.1.2. Prensagem

Os frutos foram prensados em uma prensa de 8 toneladas para tirar o óleo e simular um resíduo industrial, pois o objetivo deste estudo foi aproveitar resíduos para gerar tecnologias sustentáveis (Figura 15).



Figura 15. Prensagem do dendê para obter o óleo de palma.

4.1.3. Liofilização

A liofilização constitui um processo de desidratação em que a água do produto submetida ao prévio congelamento passa diretamente do estado sólido ao gasoso (sublimação), em condições especiais de temperatura (55 °C) e pressão (10 µHg). O objetivo desta etapa foi triturar o dendê com facilidade.

4.1.4. Trituração

Foi reduzido o tamanho das partículas em um processador de alimentos WALLITA Master R17633 (Brasil) até a formação de massa uniforme (Figura 16), com o objetivo de aumentar a relação área superficial por volume de polpa de dendê. Posteriormente, a massa foi acondicionada em embalagens flexíveis em temperatura de refrigeração (5 °C) até o momento dos experimentos.



Figura 16. Amostra triturada de dendê.

4.2. Caracterização físico – química

As polpas in natura e liofilizadas foram caracterizadas em quanto à composição físico-química, sendo determinados os seguintes constituintes:

- Umidade- Método n° 920.107. (AOAC, 2011);
- Lipídios Totais- Método n° 963.15 (AOAC, 2011);
- Cinzas- Método n° 972.15. (AOAC, 2011);
- Proteína total- Método n° 920.109. (AOAC, 2011);

Carboidratos totais calculados pela diferença entre a somatória dos valores obtidos nas determinações anteriores. Todas as determinações foram realizadas em triplicata e os resultados expressos como média e \pm desvio padrão.

4.3. Atividade enzimática

O extrato enzimático de celulase (Celluclast® 1,5 L), Pectinase (Ultrazyme AFPL) e protease (Alcalase) foram caracterizados com relação à atividade de carboximetilcelulase (CMCase) (GHOSE, 1987), atividade celulásica total (Fpase) (GHOSE, 1987), poligalacturonase (PG) (MILLER, 1959; UENOJO, 2003), pectina-liase (PMGL) (UENOJO, 2003) e protease (SARQUIS *et al.*, 2004). As análises feitas utilizaram técnicas colorimétricas com espectrofotômetro (Beckman Coulter DU 640, EUA) calibrado com solução feita pelos reagentes usados na determinação menos a solução enzimática (controle) que foi substituída por água destilada na mesma proporção.

4.4. Tratamento enzimático

Para avaliação do processo de extração enzimática foi realizado um planejamento experimental fatorial completo 2^3 com 3 repetições no ponto central, utilizando um delineamento composto central rotacional (DCCR) combinado com a metodologia de superfície de resposta (MSR).

Tabela 4. Níveis das variáveis de entrada.

Níveis/variáveis	- α	-1	0	1	+ α
Temperatura (°C)	30	35	45	55	60
Concentração enzimática (% m/v)	1,5	2	3	4	4,5
Tempo de reação (min)	45	60	120	180	195

As variáveis independentes do processo foram concentração de enzima, tempo e temperatura. Os níveis das variáveis estudadas e a matriz do planejamento experimental estão apresentados nas Tabelas 4 e 5.

Tabela 5. Tabela de planejamento experimental de extração enzimática.

Ensaio	Codificados			Reais		
	X1	X2	X3	T (°C)	[E] (% m/v)	t de reação (min)
1	-1	-1	-1	35	2	60
2	1	-1	-1	55	2	60
3	-1	1	-1	35	4	60
4	1	1	-1	55	4	60
5	-1	-1	1	35	2	180
6	1	-1	1	55	2	180
7	-1	1	1	35	4	180
8	1	1	1	55	4	180
9	-1,68 (- α)	0	0	30	3	120
10	1,68 (+ α)	0	0	60	3	120
11	0	-1,68 (- α)	0	45	1,5	120
12	0	1,68 (+ α)	0	45	4,5	120
13	0	0	-1,68 (- α)	45	3	45
14	0	0	1,68 (+ α)	45	3	195
15	0	0	0	45	3	120
16	0	0	0	45	3	120
17	0	0	0	45	3	120

T=temperatura; [E]= concentração enzimática e t=tempo

A extração enzimática foi realizada em um agitador (200 rpm) com controle da temperatura, usando 10g da amostra e adicionando 30mL de água para a pectinase e a celulase e 30mL de solução tampão de citrato fosfato 0,1 M com pH 7 para a alcalase, a seguir foi homogeneizada a solução em erlenmeyer de 125 mL. Em seguida, as enzimas foram adicionadas em concentração de acordo com o planejamento experimental estudado (Tabela 5). Finalizada a incubação, a solução enzimática foi inativada aquecendo a 75 °C por 5 minutos, seguido de um banho de gelo, segundo metodologia de Aquino (2012) seguido de centrifugação durante 10 minutos a 4000g até separação das fases oleosa, aquosa e residual.

4.5. Caracterização em função dos processos aplicados

4.5.1. Caracterização dos Óleos

4.5.1.1. Rendimento do óleo extraído

Antes de iniciar o estudo da extração aquosa, o material processado foi caracterizado com relação ao seu teor em óleo através do método de Soxhlet (1973), e o valor encontrado foi usado como referência para calcular o rendimento do óleo extraído pelos processos empregados neste estudo.

O rendimento foi calculado de acordo com a formula (1) e as amostras foram armazenadas a -18 °C.

$$Rendimento_{\text{óleo}} = \frac{\text{massa óleo (g)} / \text{massapolpa (g)}}{\text{Teor total de óleo (g/g)}} \times 100 \quad (1)$$

onde, o teor total de óleo (%) é a relação entre massa de óleo (g) extraído e massa de polpa de dendê (g).

4.5.1.2. Ácidos graxos livres

Foi realizado com método oficial da AOCS (Ca 5a-40), onde as amostras foram neutralizadas com hidróxido de sódio 0,1M em uma quantidade de 1g de amostra (AOCS, 2002). A %AGL foi calculada tendo como base o ácido oleico:

$$\%AGL = \frac{\text{Vol (mL NaOH)}}{\text{Amostra (g)}} \times 28,2 \quad (2)$$

4.5.1.3. Perfil de ácidos graxos

A obtenção de metil-ésteres foi realizada via saponificação e esterificação, segundo metodologia descrita por RODRIGUES *et al.*, (2010). Os ésteres metílicos foram preparados através de saponificação e esterificação com hidróxido de potássio em metanol (0,1 mol L⁻¹) e ácido clorídrico em metanol (0,12 mol L⁻¹). O cromatógrafo foi equipado com uma coluna capilar (Varian Inc., EUA) CP-Sil 88 (60 m × 0,25 mm) e um detector de ionização de chama. Os parâmetros de análise foram: temperatura do injetor (245 °C), temperatura do detector (280 °C), temperatura da coluna (175 °C) por 26 minutos, aumentando na taxa de 30 °C/minuto até 205 °C, permanecendo nessa temperatura por 20 minutos. O hélio foi usado como gás de arraste. Os picos dos ácidos graxos foram identificados por comparação dos tempos de retenção: a curva de calibração foi feita com uma mistura de ésteres metílicos padrão.

4.5.1.4. Estabilidade oxidativa

O método consiste em submeter uma amostra de óleo às condições aceleradas de oxidação determinando o tempo (em horas) para que uma amostra de óleo ou gordura

atinja um nível de oxidação (rancificação) sob as condições do teste, tal que os produtos de oxidação formados alterem a condutividade elétrica. A análise foi executada utilizando: 3 g de amostra, T = 130 °C e vazão de ar (20 L/h) utilizando aparelho RANCIMAT e método Cd 12b-92 (AOCS, 2002).

4.5.1.5. Cor instrumental

A cor do óleo foi analisada em colorímetro MINOLTA CR310, operando no sistema CIE (L*, a*, b*), onde L* define a luminosidade (L* = 0 preto e L* = 100 branco) e a* e b* são responsáveis pela cromaticidade (+a* vermelho e -a* verde, +b* amarelo e -b* azul) (HUNTERLAB, 1996).

4.5.2. Compostos antioxidantes

4.5.2.1. Carotenoides totais

Os óleos obtidos foram submetidos à análise de carotenoides totais, pelo método espectrofotométrico, solubilizando-se 50 mg do óleo em hexano P.A. (Nuclear), e lendo-se a absorbância em comprimento de onda de 453 nm. A concentração, em termos de β -caroteno (CT, $\mu\text{g/g}$) foi obtida mediante a equação 4 (GROSS, 1991).

$$CT = \frac{VxA}{\varepsilon xm_o} \times 10^4 \quad (\mu\text{g/g})$$

(4)

sendo V volume total (mL), m massa de amostra (g), ε coeficiente de extinção do β -caroteno (2500), A absortividade, d, o fator de diluição da amostra extraída para leitura.

4.5.3. Compostos Fenólicos

4.5.3.1. Preparo dos extratos

Foi utilizada extração por solvente para determinar a concentração de fenóis totais nos óleos, nos resíduos e na polpa (mesocarpo) de dendê segundo a metodologia de Del Toro Sánchez *et al.*, (2011) com modificações.

As amostras de óleo foram diluídas em metanol 80% na diluição de 2/10 (g/mL) em erlenmeyer de 125 mL e colocado sob agitação a temperatura de 50 °C durante 60

minutos. Para amostras de polpa foi seguido o mesmo procedimento. Para a água residual do processo aquoso de extração, foi utilizado 1mL de amostra filtrada e diluída em metanol 1:2. Todas as amostras foram centrifugadas e recolhido o sobrenadante. A fração metanólica recolhida foi lavada com 10 mL de hexano para remoção de interferentes lipídicos.

4.5.3.2. Determinação de compostos fenólicos totais

O teor de compostos fenólicos totais foi determinado pelo método espectrofotométrico de Folin- Ciocalteau, segundo metodologia proposta por Singleton *et al.*, (1965). Foi utilizado ácido gálico como padrão de referência. Este método envolve a redução do reagente pelos compostos fenólicos das amostras com formação de um complexo azul.

Uma alíquota de 300 μ L de extrato metanólico foram adicionados ao tubo teste e adicionado 8,2 mL de água destilada seguidos de 0,5 mL do reagente de Folin Ciocalteau. A reação ficou em repouso por 5 minutos para então ser acrescentado 1 mL de carbonato de sódio (Na_2CO_3) a 10% (m/v), o tubo agitado e deixado em repouso por 60 minutos em ausência de luz. A leitura de absorvância foi realizada em espectrofotômetro utilizando comprimento de onda de 760 nm. A curva de calibração 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).

4.5.4. Capacidade antioxidante pelo método ABTS

A quantificação da atividade antioxidante foi realizada nas amostras de óleo baseado no método do radical ABTS conforme descrito por Rufino *et al.*, (2007), fazendo algumas modificações. Para o preparo da amostra dissolveu-se 3 g de óleo em em 10 mL de hexano. Preparou-se o radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$, 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. Quatro pontos foram preparados para obtenção da curva de calibração do Trolox, 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 serão, aqui, aferidos com água destilada.

Em ambiente escuro, transferiu-se uma alíquota de 30 μL 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. Continuando a análise, plotou-se os dados em um gráfico de dispersão absorvância versus concentração em mM de Trolox. Para calcular a atividade antioxidante, substituiu-se a equação da reta a absorvância equivalente a 1.000 μM do padrão Trolox. O valor obtido para o termo x corresponde à diluição da amostra (mg/L) equivalente a 1.000 μM de Trolox.

4.6. Análises estatístico

Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) utilizando Planejamento fatorial completo 2^3 com 3 repetições no ponto central para o tratamento enzimático. A comparação entre médias foi realizada por análise de variância (ANOVA) e Teste de Tukey. Todos os cálculos foram efetuados utilizando software STATISTICA 7.0 ® (STATSOFT INC, 2004). Como critério de seleção, para a melhor condição de extração, foi considerada a significância do coeficiente de regressão, pelo teste t, adotando-se o nível de 5% de significância e a magnitude do coeficiente de determinação (R^2).

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1. Caracterização físico-química da matéria-prima

A Tabela 6 representa o resultado da caracterização físico-química (umidade, lipídeos, proteínas, cinzas e carboidratos) da matéria prima utilizada nos experimentos (polpa in natura, da polpa prensada e da polpa sem prensar liofilizadas do dendê).

Foi possível observar que os valores dos compostos orgânicos (carboidratos, proteínas e cinzas) foram mais elevados nas amostras liofilizadas, fenômeno consequente da redução da atividade de água por meio de evaporação.

A liofilização tem como principal característica reduzir o teor de água livre nos alimentos, preservando, geralmente, suas características sensoriais e compostos termos sensíveis, como é o caso dos carotenoides (VIEIRA & NICOLETI, 2012).

Tabela 6. Composição centesimal do fruto de dendê em base seca.

Componentes	Polpa de dendê (g/100g)	Dendê liofilizado sem prensar (g/100g)	Dendê liofilizado prensado (g/100g)
Umidade	39,13 ± 0,809 ^b	9,12 ± 0,763 ^a	8,34 ± 0,890 ^a
Lipídeos	41,88 ± 0,583 ^b	49,02 ± 0,324 ^c	35,37 ± 0,664 ^a
Proteínas	5,13 ± 0,161 ^a	7,24 ± 0,180 ^b	7,29 ± 0,130 ^b
Cinzas	0,20 ± 0,044 ^a	0,57 ± 0,050 ^b	0,73 ± 0,059 ^b
Carboidratos	13,65	34,04	48,26

Médias seguidas da mesma letra na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey, a nível de 5%.

No que se refere à analogia entre as amostras de dendê liofilizado sem prensar (DLSP) e dendê liofilizado prensado (DLP) não houve diferença significativa ($p > 0,05$) para a maioria de constituintes. Porém, comparando os valores dos componentes dessas amostras com a amostra de polpa de dendê todos os componentes apresentam diferença significativa ($p < 0,05$).

Ao avaliar as médias encontradas neste estudo (Tabela 6), verificou-se que os valores encontrados para todos os compostos analisados apresentam médias semelhantes aos obtidos por GARCÍA DE SOTEIRO *et al* (2008).

Outros estudos também determinaram a composição centesimal do fruto de dendê, Bora *et al* (2011) encontraram valores maiores de lipídeos (73,2% polpa, 32,6% sementes), mas os valores de carboidratos, cinzas e proteína foram valores próximos aos do presente trabalho. Nascimento *et al* (2009) analisaram a umidade e cinzas do fruto

dando resultados de 6,55% e 0,55% respectivamente. Ruiz *et al* (2015) encontraram valores de 68,5% para lipídeos, 3,2% para proteínas e 1,77% de cinzas.

Buggenhout *et al.*, (2009) ressaltaram que as características de matérias-primas vegetais dependem geralmente da genética e do grau de maturação, porém podem ser afetadas por práticas culturais como aplicações de fertilizantes e/ ou hormônios, estresse ambiental, como seca, estresse pelo frio, estresse pelo congelamento, época de pós-colheita, entre outros.

O pH e a acidez da polpa de dendê, DLSP e DLP estão apresentados na Tabela 7, no referente às analogias e comparando os valores dessas amostras entre si, todos os valores apresentam diferença significativa ($p < 0,05$). Os valores exibidos neste trabalho são próximos aos apresentados por AGROPALMA (2009).

Tabela 7. Acidez e pH das amostras.

Componentes	Polpa de dendê (g/100g)	Dendê liofilizado sem prensar (g/100g)	Dendê liofilizado prensado (g/100g)
pH	5,29 ± 0,006 ^a	5,803 ± 0,005 ^c	5,53 ± 0,055 ^b
Acidez	1,25 ^b	1,34 ± 0,0001 ^c	1,20 ^a

Médias seguidas da mesma letra na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey, a nível de 5%.

5.2. Atividade enzimática

As enzimas comerciais de celulase, pectinase e alcalase foram caracterizadas com relação à atividade enzimática de carboximetilcelulase (CMCase), atividade celulásica total (Fpase), poligalacturonase (PG), pectina-liase (PMGL) e protease e os resultados obtidos são apresentados na Tabela 8.

Tabela 8. Caracterização das atividades enzimáticas.

Componentes	Celluclast 1,5L (U/mL)	Ultrazyme AFPL (U/mL)	Alcalase (U/mL)
CMCase	1113,12±0,834 ^a	348,34±12,82 ^b	ND
Fpase	63,51±1,131 ^a	18,60±23,349 ^b	ND
PG	431,56±3,03 ^a	3,25±0,491 ^b	ND
PMGL	2,59±3,436 ^a	1433,46±1,465 ^b	ND
Protease	ND	ND	1357,5±16,77

Valores médios obtidos a partir das análises em duplicata. Médias seguidas da mesma letra nas linhas não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ao nível de 10%. *ND = Não detectada.

Todos as preparações enzimáticas apresentaram-se diferente significativamente ($p \leq 0,1$). A atividade enzimática da celulase confirma os estudos de Farias (2013).

Em um estudo realizado por Da Silva (2010) foi feita a caracterização de algumas preparações enzimáticas comerciais, onde ressaltaram 16,95 e 29,28 U/mL pectinometilsterases nas preparações Celluclast e Ultrazym AFP-L. Teixeira et al (2013), encontrou valores de 1800 U/mL CMCase e 581,23 U/mL PG para a Celluclast que confirmam os valores apresentados neste estudo. Apar & Özbek (2008) encontrou uma atividade de 2,4 AU/g para alcalase e mostraram que a enzima tem uma alta capacidade de hidrolises e solubilidade comparado com outras enzimas.

5.3. Avaliação do tratamento enzimático

5.3.1. Planejamento experimental

Para a análises do estudo enzimático na extração do óleo de palma foi realizado um Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR). O delineamento consiste no planejamento fatorial completo 2^3 com 3 repetições no ponto central combinado com a metodologia de superfície de resposta para melhor visualização do comportamento do processo nas condições estudadas.

Na Tabela 9 temos o resultado do planejamento experimental para extração enzimática a partir do uso das enzimas de maceração celulase, pectinase e alcalase. O valor do rendimento de óleo foi calculado com base no valor total de lipídeos encontrados na amostra pela análise de Soxhlet. A concentração de carotenoides foi calculada em base a concentração de β -caroteno e está expressa em ppm.

Tabela 9. Matriz DCCR para o tratamento enzimático.

Ensaio	Celulase				Pectinase				Alcalase			
	Rendimento (%)		Carotenoides (ppm)		Rendimento (%)		Carotenoides (ppm)		Rendimento (%)		Carotenoides (ppm)	
	DP	DSP	DP	DSP	DP	DSP	DP	DSP	DP	DSP	DP	DSP
1	41,90	49,90	439,61	649,43	53,90	56,77	516,51	831,43	49,04	52,23	845,38	1153,40
2	43,05	48,05	441,05	650,48	54,05	55,06	520,35	831,79	50,72	53,79	846,76	1154,73
3	61,33	66,33	458,06	666,33	72,34	73,97	540,46	855,12	55,30	58,26	851,72	1159,72
4	76,57	81,57	473,78	680,67	87,58	88,53	560,68	874,45	57,04	60,07	853,40	1161,38
5	47,41	52,41	444,03	654,68	58,41	59,24	525,27	840,98	53,93	56,53	849,57	1157,59
6	50,19	55,19	447,21	655,13	61,19	62,36	527,99	842,75	50,05	53,02	846,06	1154,64
7	60,93	65,92	457,54	665,95	71,92	72,45	538,61	853,35	53,08	56,01	849,06	1157,79
8	76,35	81,34	473,58	682,52	87,3	88,78	560,47	874,46	67,02	70,04	863,79	1171,69
9	60,70	65,69	457,52	665,25	71,69	72,94	537,30	852,12	69,49	72,89	865,26	1173,00
10	68,32	73,32	465,24	673,96	79,32	80,37	552,83	866,35	70,20	73,33	866,42	1174,86
11	26,41	31,40	424,96	631,83	37,40	38,61	499,18	814,84	35,90	48,45	841,04	1149,79
12	62,92	67,91	459,89	668,92	73,91	74,91	542,93	856,23	42,42	55,34	848,38	1156,07
13	59,84	64,84	456,05	664,42	70,84	71,43	535,30	850,23	41,03	54,05	847,37	1155,75
14	63,14	68,13	460,77	668,48	74,13	75,59	544,98	858,24	52,16	65,50	858,84	1166,87
15	47,35	52,35	442,75	653,06	58,35	59,35	524,69	838,99	56,08	56,05	849,08	1157,06
16	48,17	53,16	444,30	653,12	59,16	60,35	525,20	840,54	53,16	56,11	849,09	1157,03
17	47,39	52,39	444,75	654,83	58,39	59,37	525,95	840,79	53,04	59,07	851,24	1159,08

DP=dendê prensado, DSP=dendê sem prensado.

5.3.1.1. Rendimento do óleo extraído

Sabe-se que o tratamento enzimático em meio aquoso é realmente eficiente na degradação da parede dos tecidos vegetais, além de evitar a degradação de compostos de interesse como é o caso dos antioxidantes e carotenoides devido à utilização de temperaturas moderadas.

A extração enzimática de óleos vegetais, principalmente para aumentar o rendimento de extração de óleo fornece resultados promissores baseando-se na capacidade das enzimas de atingirem as paredes vegetais para liberar os óleos presentes dentro das células vegetais.

Foi observado na matriz que o ensaio 4 (temperatura: 55 °C, concentração de enzima 4% e tempo 60 min.) e 8 (temperatura: 55 °C, concentração de enzima 4% e tempo 180 min.) para a celulase e pectinase; e o 8, 9 (temperatura: 30 °C, concentração de enzima 3% e tempo 120 min.) e 10 (temperatura: 60 °C, concentração de enzima 3% e tempo 120 min.) para alcalase obtiveram maior rendimento de extração de óleo tanto para o dendê prensado como para o dendê sem prensar. O menor valor de extração foi obtido no ensaio 11 (temperatura: 45 °C, concentração de enzima 1,5% e tempo 120 min.) com valores de 26,21 e 31,40% para o DP e DSP extraídos como a celulase; 37,40 e 38,61% para o DP e DSP extraídos com a pectinase e finalmente 35,90 e 48,45 para o DP e DSP extraídos com alcalase.

No Apêndice 4 são apresentados os efeitos para o rendimento do óleo, e pode-se observar os efeitos significativos de acordo com o teste t de *student*. O efeito mais significativo para o processo de extração aquosa do óleo de palma utilizando pré-tratamento enzimático foi a concentração enzimática. A variável de concentração de enzima teve efeito com sentido positivo indicando relação diretamente proporcional com o rendimento de extração de óleo indicando que as enzimas apresentam atividade na matriz e auxiliam no processo de extração como foi observado por Rosenthal *et al.*, (2001), Najafian *et al.*, (2009); De Faveri, (2008), Soto *et al.*, (2006); Santos & Ferrari, (2005), Teixeira *et al.*, (2013).

Para avaliação da adequação do modelo da regressão aos pontos experimentais obtidos para a extração de óleo usando as três enzimas, utilizou-se a análise de variância (ANOVA) apresentada na Tabela 10:

Tabela 10. Análise de Variância (ANOVA) para o rendimento de óleo do dendê.

Celulase DP						
Fonte de variação	SQ	GL	MQ	Fcal	Ftab(p≤0,05)	P
Regressão	2713,951	9	301,550	120,86	3,68	0,000031
Resíduo	17,465	7	2,495			
Falta de ajuste	17,038	5	3,408	15,943	19,3	0,060000
Erro	0,427	2	0,214			
Total	2731,416	16				
Pectinase DP						
Fonte de variação	SQ	GL	MQ	Fcal	Ftab(p≤0,05)	P
Regressão	2690,496	9	298,944	137,889	3,68	0,000000
Resíduo	15,174	7	2,168			
Falta de ajuste	14,757	5	2,951	14,160	19,3	0,067271
Erro	0,417	2	0,208			
Total	2705,670	16				
Alcalase DP						
Fonte de variação	SQ	GL	MQ	Fcal	Ftab(p≤0,05)	p
Regressão	1272,552	9	141,394	10,175	3,68	0,000000
Resíduo	97,269	7	13,8956			
Falta de ajuste	91,342	5	18,2684	6,164	19,3	0,145400
Erro	5,927	2	2,9637			
Total	1369,821	16				
Celulase DSP						
Fonte de variação	SQ	GL	MQ	Fcal	Ftab(p≤0,05)	p
Regressão	2645,934	9	293,992	161,979	3,68	0,000025
Resíduo	12,703	7	1,815			
Falta de ajuste	12,286	5	2,457	11,789	19,3	0,080032
Erro	0,417	2	0,208			
Total	2658,637	16				
Pectinase DSP						
Fonte de variação	SQ	GL	MQ	Fcal	Ftab(p≤0,05)	p
Regressão	2661,148	9	265,683	150,398	3,68	0,000030
Resíduo	13,762	7	1,966			
Falta de ajuste	13,108	5	2,622	8,022	19,3	0,114538
Erro	0,654	2	0,327			
Total	2674,910	16				
Alcalase DSP						
Fonte de variação	SQ	GL	MQ	Fcal	Ftab(p≤0,05)	p
Regressão	719,688	9	79,965	4,172	3,68	0,000000
Resíduo	134,155	7	19,165			
Falta de ajuste	128,194	5	25,638	8,60096	19,3	0,107424
Erro	5,961	2	2,980			
Total	853,843	16				

DP=dendê prensado, DSP=dendê sem prensado.

Os resultados de análise de variância para a regressão e para falta de ajuste revelam que as regressões são significativas para todas as enzimas e que o modelo se ajusta. O valor de F calculado para a regressão foi maior que o F tabelado, assim como o valor de p foi menor que 0,05. Isso mostra que os modelos definidos pelas regressões são adequados para representar o mecanismo de extração enzimático nas presentes condições para cada uma das enzimas utilizadas. A falta de ajuste não significativa mostra que os pontos experimentais tiveram um baixo desvio em relação aos pontos preditos (Apêndice 6) pelo modelo polinomial.

A partir desses parâmetros, foram gerados os modelos matemáticos (Tabela 11) utilizando só os efeitos significativos como coeficientes para cada uma das enzimas empregadas.

Tabela 11. Modelo reduzido do rendimento do óleo em função das variáveis independentes, teste F e R^2 .

Amostra	Resposta	Modelo	R^2
Dendê prensado	Celulase	$Y=47,654 + 1,736.X1 + 2,961.(X1)^2 + 5,642.X2 - 0,555.(X2)^2 + 0,644.X3 + 2,426.(X3)^2 + 1,670.X1.X2 - 0,829.X2.X3$	99,36
	Pectinase	$Y=58,641 + 3,401.X1 + 5,950.(X1)^2 + 11,210.X2 - 1,082.(X2)^2 + 1,210.X3 + 4,880.(X3)^2 + 3,466.X1.X2 - 1,539.X2.X3$	99,43
	Alcalase	$Y=53,906 + 6,205.(X1)^2 + 2,906.X2 - 4,667.(X2)^2 + 2,248.X3$	92,89
Dendê sem prensado	Celulase	$Y=52,624 + 3,254.X1 + 6,005.(X1)^2 + 11,062.X2 - 1,027.(X2)^2 + 1,065.X3 + 4,935.(X3)^2 + 3,716.X1.X2 - 1,286.X2.X3$	99,52
	Pectinase	$Y=59,684 + 1,641.X1 + 3,014.(X1)^2 + 5,543.X2 - 0,509.(X2)^2 + 0,567.X3 + 2,457.(X3)^2 + 1,842.X1.X2 - 0,69.X2.X3$	99,48
	Alcalase	$Y=57,368 + 4,702.(X1)^2 + 2,959.X2 - 2,814.(X2)^2 + 2,234.X3$	84,28

As superfícies de resposta e curvas de contorno estão representadas nas Figuras 17, 18, 19, 20, 21 e 22.

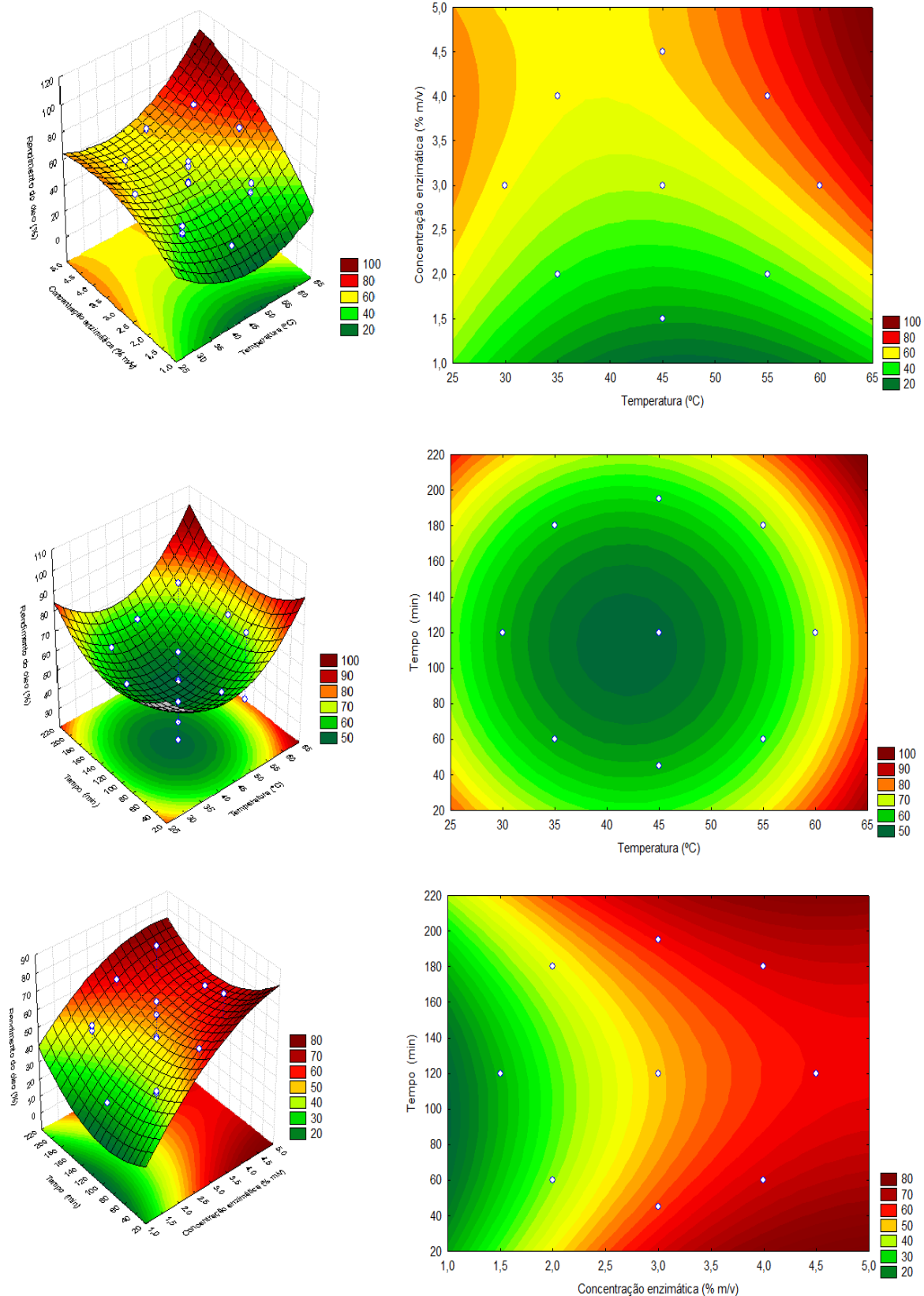


Figura 17. Superfície de resposta e curva de contorno para efeito da concentração com temperatura, tempo com temperatura e tempo com concentração da ação da celulase no dendê prensado para rendimento de extração de óleo.

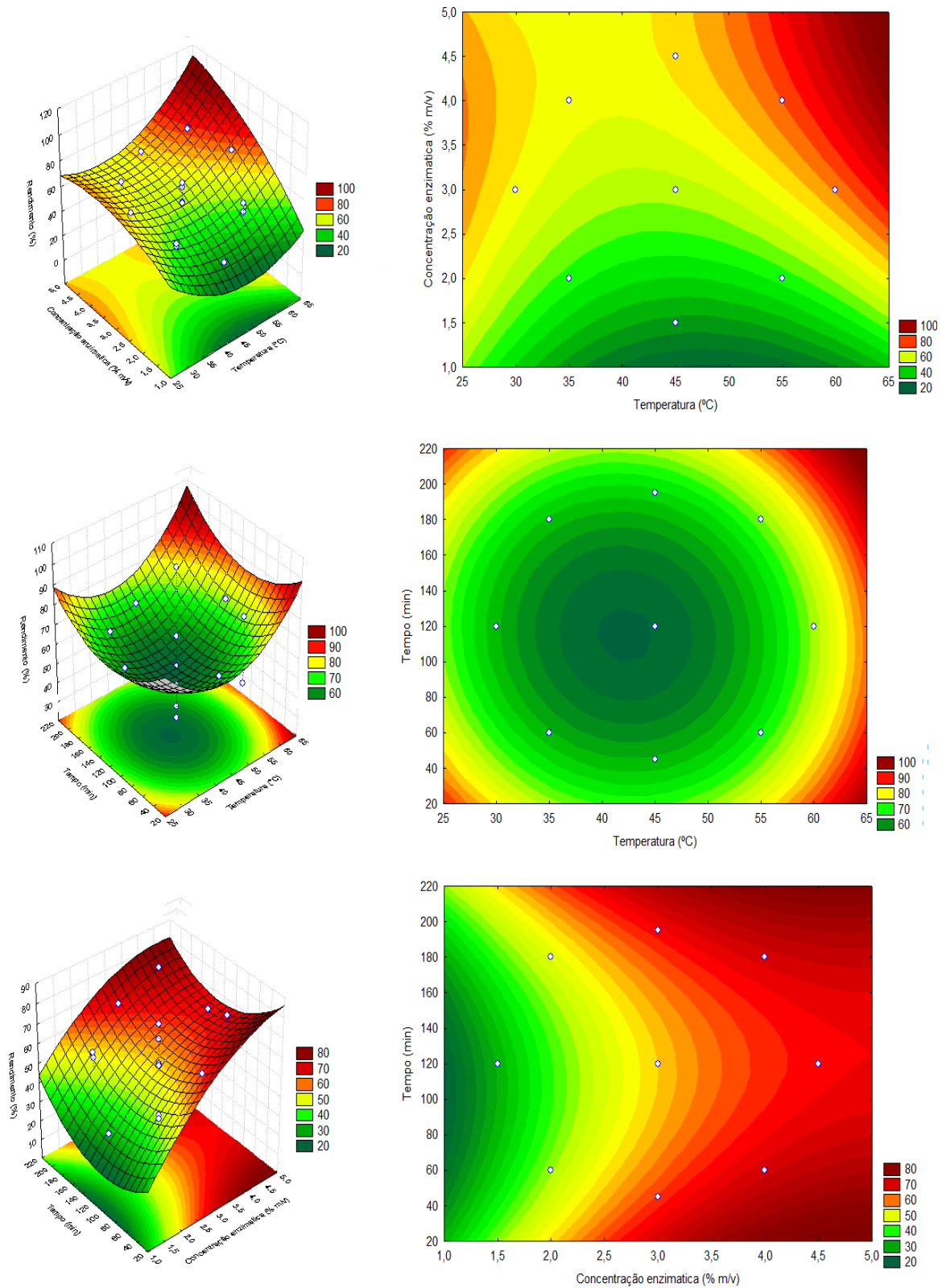


Figura 18. Superfície de resposta e curva de contorno para efeito da concentração com temperatura, tempo com temperatura e tempo com concentração da ação da celulase no dendê sem prensado para rendimento de extração de óleo.

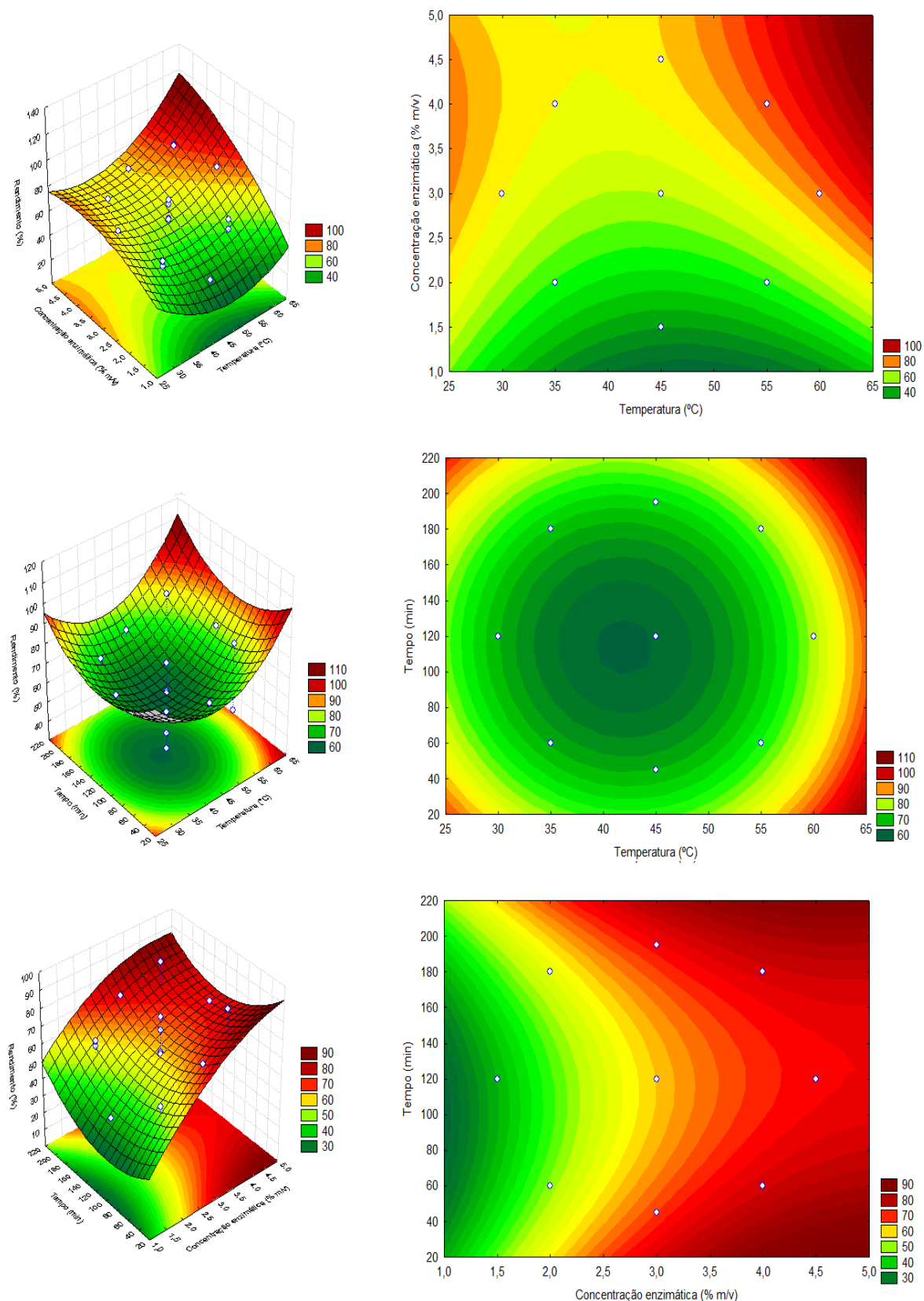


Figura 19. Superfície de resposta e curva de contorno para efeito da concentração com temperatura, tempo com temperatura e tempo com concentração da ação da pectinase no dendê prensado para rendimento de extração de óleo.

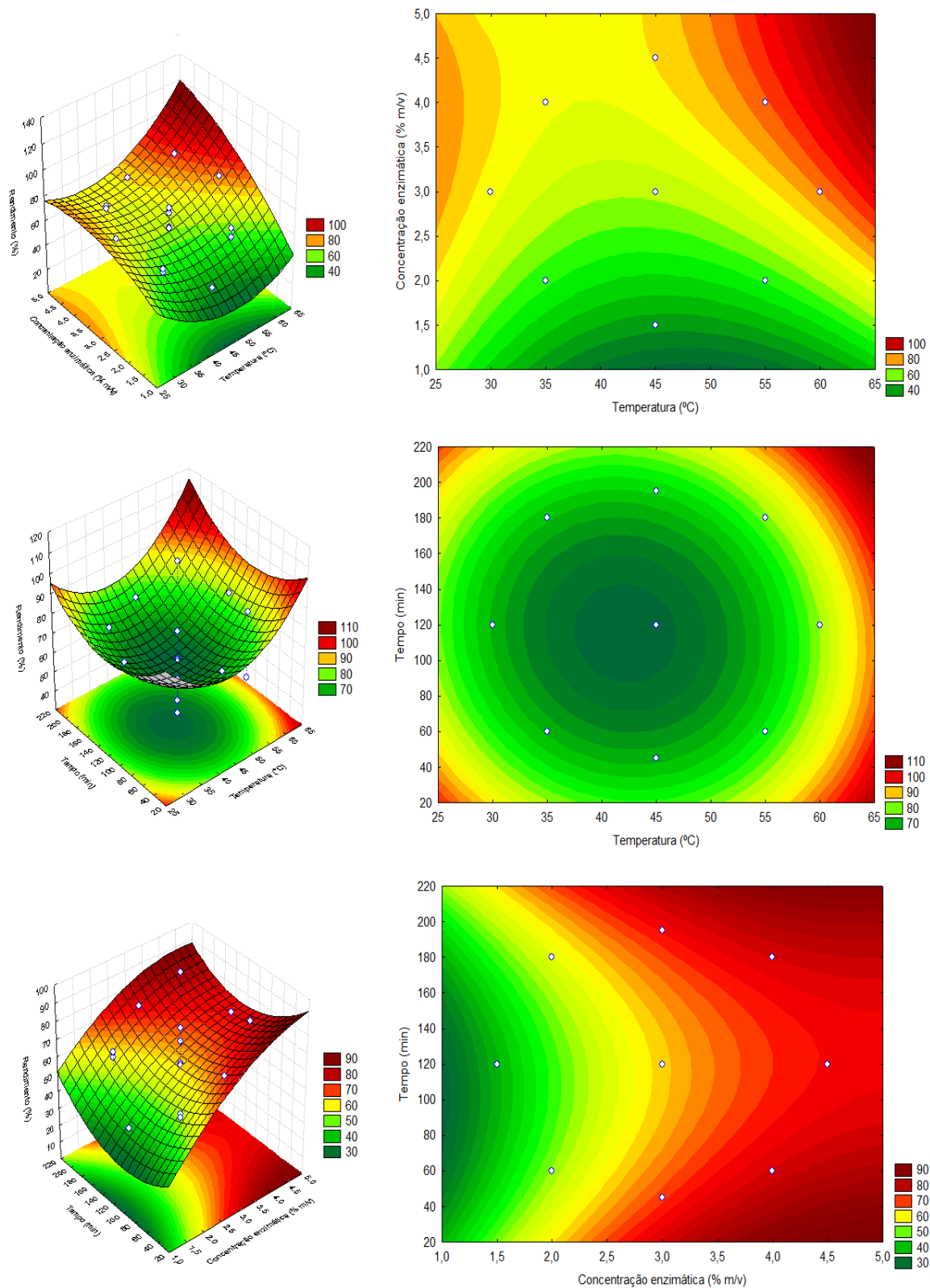


Figura 20. Superfície de resposta e curva de contorno para efeito da concentração com temperatura, tempo com temperatura e tempo com concentração da ação da pectinase no dendê sem prensado para rendimento de extração de óleo.

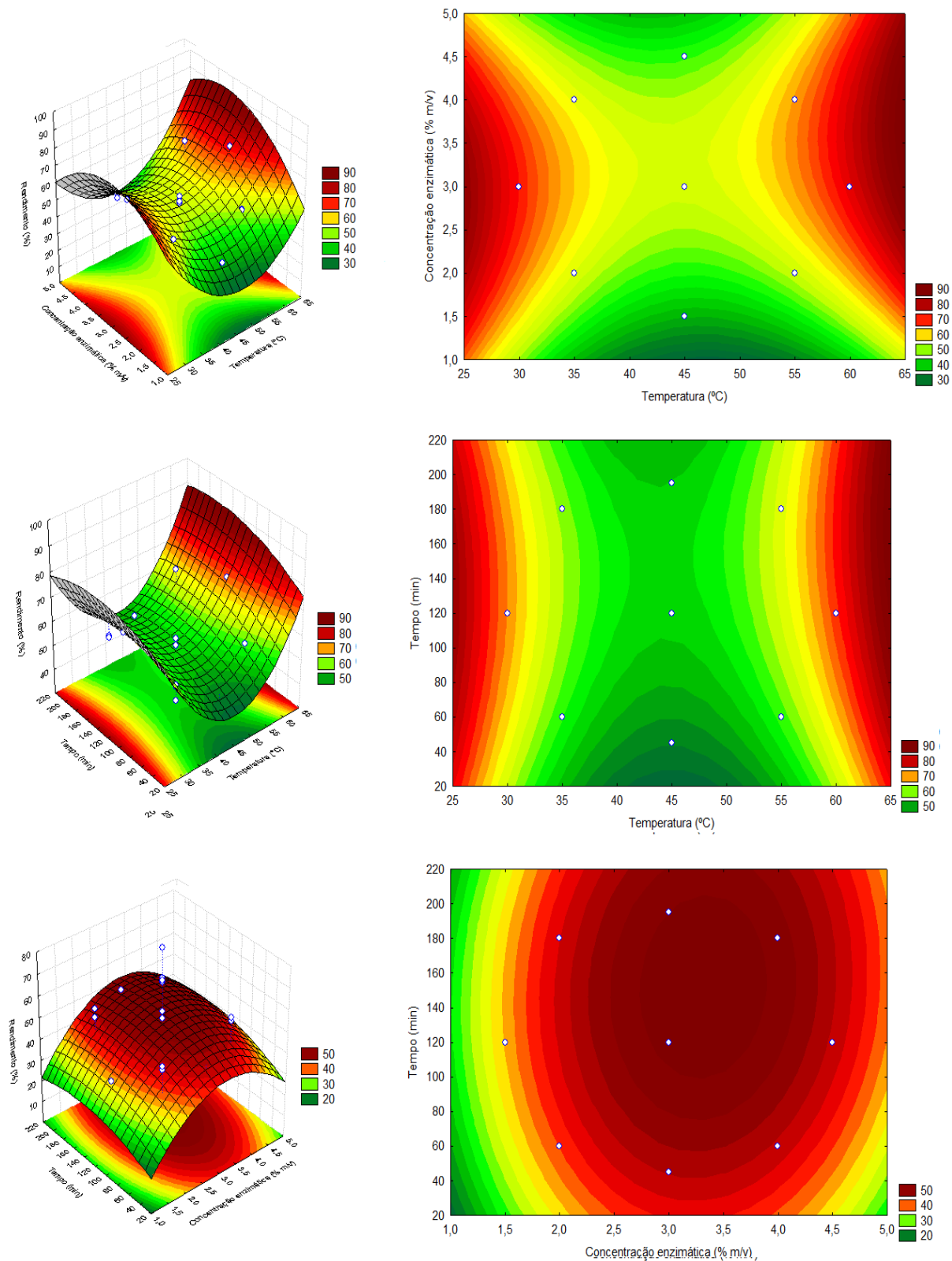


Figura 21. Superfície de resposta e curva de contorno para efeito da concentração com temperatura, tempo com temperatura e tempo com concentração da ação da alcalase no dendê prensado para rendimento de extração de óleo.

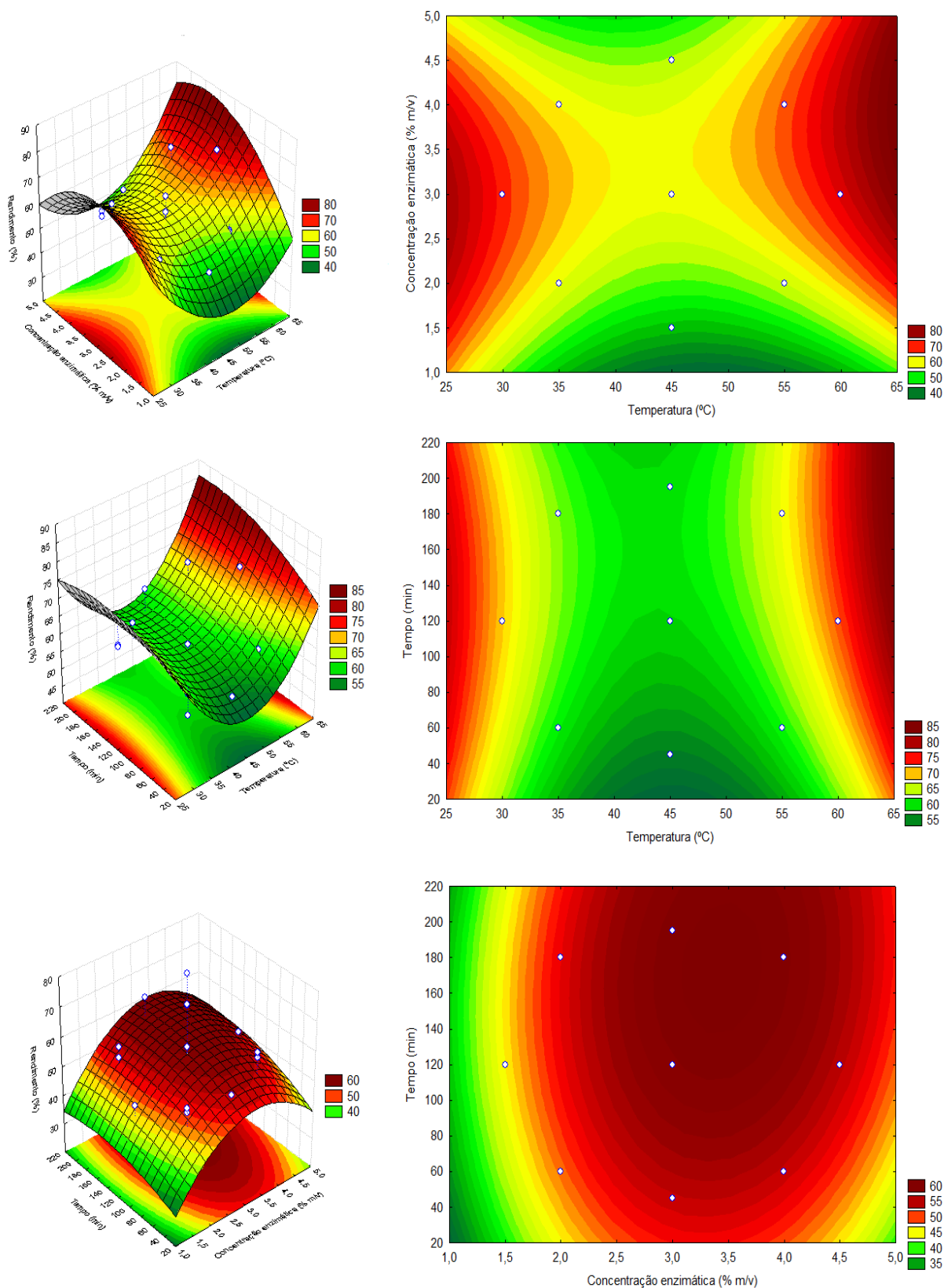


Figura 22. Superfície de resposta e curva de contorno para efeito da concentração com temperatura, tempo com temperatura e tempo com concentração da ação da alcalase no dendê sem prensado para rendimento de extração de óleo

Analisando as curvas de contorno é possível verificar que o maior rendimento de extração de óleo é obtido quando o sistema é operado a uma concentração enzimática maior a 3%. A temperatura varia dependendo do tipo de enzima utilizada, por exemplo a celulase e a pectinase trabalha melhor a uma temperatura de 55 °C enquanto a alcalase trabalha melhor em uma faixa de 30-60 °C.

Teixeira *et al.*, (2013) utilizaram enzima Celluclast 1,5L, Pectinase Multieffect FE e tanase produzida por *Paecilomyces variotii* para extração de óleo de palma a uma concentração enzimática de 4%, 50 °C e 1 hora e verificaram que de enzima foi significativa, aumentando a concentração de óleo e antioxidantes.

Hamzah *et al.*, (2011) utilizaram celulase e β 1-4 glicosidase para extração de óleo de palma e encontraram que os parâmetros tais como: pH, temperatura e a concentração enzimática influencia na hidrólise enzimática da fibra. Os resultados revelaram que o pH e a temperatura aumentam a o rendimento de extração de óleo quando as enzimas são usadas em uma concentração maior.

Najafian *et al.*, (2009) investigaram a extração de óleo de oliva usando Pectinex Ultra SP-L (Novo nordisk) e verificaram que a concentração de enzima foi significativa, aumentando a extração de óleo e polifenóis.

5.3.1.2. Concentração de carotenoides

Foi feito a análise da concentração de carotenoides no óleo palma, foi utilizado o mesmo delineamento composto central rotacional (DCCR) que para o rendimento de extração do óleo.

Na Tabela 9 temos o resultado do planejamento experimental para a extração enzimática a partir do uso das enzimas de maceração celulase, pectinase e alcalase. Sabe-se que o tratamento enzimático não requer de altas temperaturas para extração pelo que garante que os pigmentos não se degradem, como é o caso dos carotenoides, além as enzimas têm uma eficiência alta na degradação da parede celular dos tecidos vegetais sendo que a liberação destes pigmentos seja mais fácil.

Foi observado na matriz que o ensaio 4 (temperatura: 55 °C, concentração de enzima 4% e tempo 60 min.) e 8 (temperatura: 55 °C, concentração de enzima 4% e tempo 180 min.) para a celulase e pectinase; e o 8, 9 (temperatura: 30 °C, concentração de enzima 3% e tempo 120 min.) e 10 (temperatura: 60 °C, concentração de enzima 3% e tempo 120

min.) para alcalase obtiveram uma maior concentração de carotenoides tanto para o dendê prensado como para o dendê sem prensar. Gerando valores para os ensaios 4 e 8 de 473,78 e 473,58ppm no DP; 680,67 e 682,52ppm para o DSP usando celulase; 560,68 e 560,47ppm no DP e 874,45 e 874,46ppm no DSP usando a enzima pectinase. Para alcalase os valores para os ensaios 8,9 e 10 foram de 863,79; 865,26 e 866,42ppm para o DP e 1171,69; 1173,00 e 1174,86ppm para o DSP.

O menor valor de extração foi obtido no ensaio 11 (temperatura: 45 °C, concentração de enzima 1,5% e tempo 120 min.) com valores de 424,96 e 631,83ppm para o DP e DSP extraídos como a celulase; 499,18 e 814,84ppm para o DP e DSP extraídos com a pectinase e finalmente 841,04 e 11,49,79ppm para o DP e DSP extraídos com alcalase.

A análises estatística dos efeitos para cada enzima estão apresentados no Apêndice 5 em nível de 5% de confiabilidade para Teste *t* de *student*. A temperatura (L), a concentração enzimática (L) e o tempo (L) tiveram sentido positivo indicando relação diretamente proporcional com a concentração de carotenoides indicando que as enzimas facilitam a liberação deles.

Para avaliação da adequação dos modelos da regressão aos pontos experimentais obtidos utiliza-se a análise de variância (ANOVA) apresentada na Tabela 12 para cada uma das enzimas utilizadas na extração no dendê prensado e no dendê sem prensar.

Tabela 12. Análise de Variância (ANOVA) para a concentração de carotenoides do óleo do dendê.

Celulase DP						
Fonte de variação	SQ	GL	MQ	Fcal	Ftab(p≤0,05)	p
Regressão	2631,394	9	292,377	89,302	3,68	0,000002
Resíduo	22,921	7	3,274			
Falta de ajuste	20,719	5	4,144	3,764	19,3	0,223119
Erro	2,202	2	1,101			
Total	2654,315	16				
Pectinase DP						
Fonte de variação	SQ	GL	MQ	Fcal	Ftab(p≤0,05)	p
Regressão	4074,092	9	452,676	215,457	3,68	0,000000
Resíduo	14,707	7	2,101			
Falta de ajuste	13,903	5	2,781	6,922	19,3	0,131025
Erro	0,803	2	0,402			
Total	4088,799	16				

Alcalase DP						
Fonte de variação	SQ	GL	MQ	Fcal	Ftab(p≤0,05)	p
Regressão	738,564	9	82,062	4,550	3,68	0,000001
Resíduo	126,237	7	18,033			
Falta de ajuste	123,141	5	24,628	15,909	19,3	0,060191
Erro	3,096	2	1,548			
Total	864,801	16				

Celulase DSP						
Fonte de variação	SQ	GL	MQ	Fcal	Ftab(p≤0,05)	p
Regressão	2540,845	9	282,316	175,460	3,68	0,000001
Resíduo	11,264	7	1,609			
Falta de ajuste	9,244	5	1,849	1,830	19,3	0,389914
Erro	2,020	2	1,010			
Total	2552,109	16				

Pectinase DSP						
Fonte de variação	SQ	GL	MQ	Fcal	Ftab(p≤0,05)	p
Regressão	3896,912	9	432,990	226,815	3,68	0,000000
Resíduo	13,363	7	1,909			
Falta de ajuste	11,462	5	2,292	2,411	19,3	0,318706
Erro	1,902	2	0,951			
Total	3910,275	16				

Alcalase DSP						
Fonte de variação	SQ	GL	MQ	Fcal	Ftab(p≤0,05)	P
Regressão	723,441	9	80,382	4,727	3,68	0,000000
Resíduo	119,018	7	17,002			
Falta de ajuste	116,257	5	23,251	16,8412	19,3	0,056995
Erro	2,761	2	1,380			
Total	842,460	16				

Os resultados de análise de variância para a regressão e para falta de ajuste revelam que as regressões são significativas para todas as enzimas. O valor de F calculado para a regressão foi maior que o F tabelado, assim como o valor de p foi menor que 0,05. Isso mostra que os modelos definidos pelas regressões são adequados para representar o mecanismo de extração enzimático nas presentes condições para cada uma das enzimas utilizadas. A falta de ajuste não significativa mostra que os pontos experimentais tiveram um baixo desvio em relação aos pontos preditos (Apêndice 7) pelo modelo polinomial.

A partir desses parâmetros, foram gerados os modelos matemáticos para a concentração de carotenoides presentes no óleo (Tabela 13) utilizando só os efeitos significativos como coeficientes para cada uma das enzimas empregadas (celulase, pectinase e alcalase). As superfícies de resposta e curvas de contorno estão representadas nas Figuras 23, 24, 25, 26, 27 e 28.

Tabela 13. Modelo reduzido De carotenoides em função das variáveis independentes, teste F e R².

Amostra	Resposta	Modelo	R²
Dendê prensado	Celulase	$Y = 443,957 + 3,616.X1 + 6,103.(X1)^2 + 10,974.X2 - 1,304.X3 + 5,050.(X3)^2 + 3,392.X1.X2$	99,13
	Pectinase	$Y = 525,264 + 5,476.X1 + 7,062.(X1)^2 + 13,455.X2 - 1,444.(X2)^2 + 2,242.X3 + 5,317.(X3)^2 + 4,44.X1.X2 - 2,307.X2.X3$	99,17
	Alcalase	$Y = 850,078 + 4,759.(X1)^2 + 3,117.X2 - 2,726.(X2)^2 + 2,234.X3 + 2,317.X1.X2$	85,40
Dendê sem prensado	Celulase	$Y = 653,638 + 3,448.X1 + 5,751.(X1)^2 + 10,851.X2 + 1,333.X3 + 4,633.(X3)^2 + 3,676.X1.X2$	99,55
	Pectinase	$Y = 840,089 + 2,436.X1 + 3,419.(X1)^2 + 6,595.X2 - 0,780.(X2)^2 + 1,180.X3 + 2,533.(X3)^2 + 2,394.X1.X2 - 1,392.X2.X3$	99,65
	Alcalase	$Y = 1158,001 + 4,812.(X1)^2 + 2,988.X2 - 2,629.(X2)^2 + 2,284.X3 + 2,147.X1.X2$	85,87

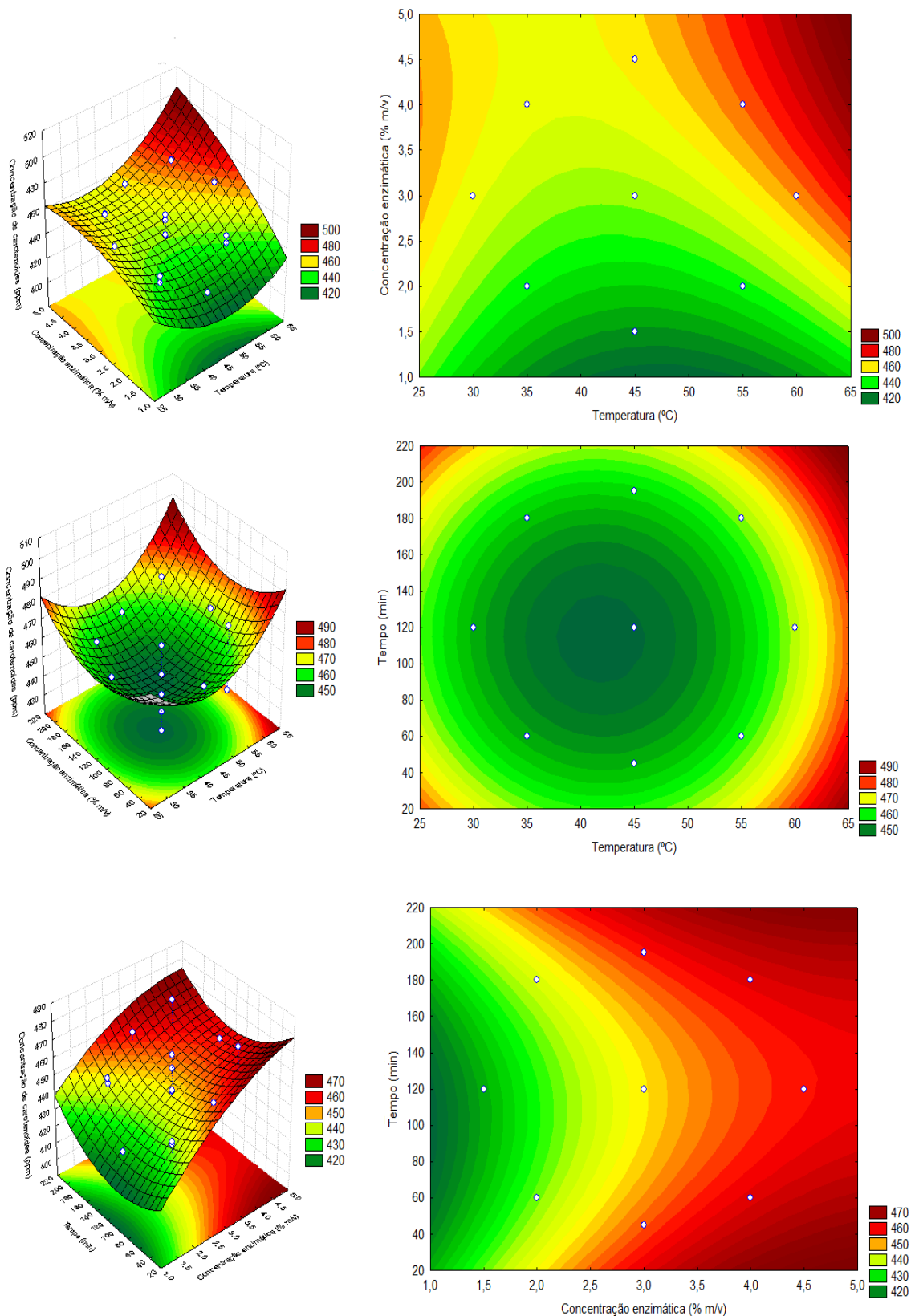


Figura 23. Superfície de resposta e curva de contorno para efeito da concentração com temperatura, tempo com temperatura e tempo com concentração da ação da celulase no dente prensado para a concentração de carotenoides.

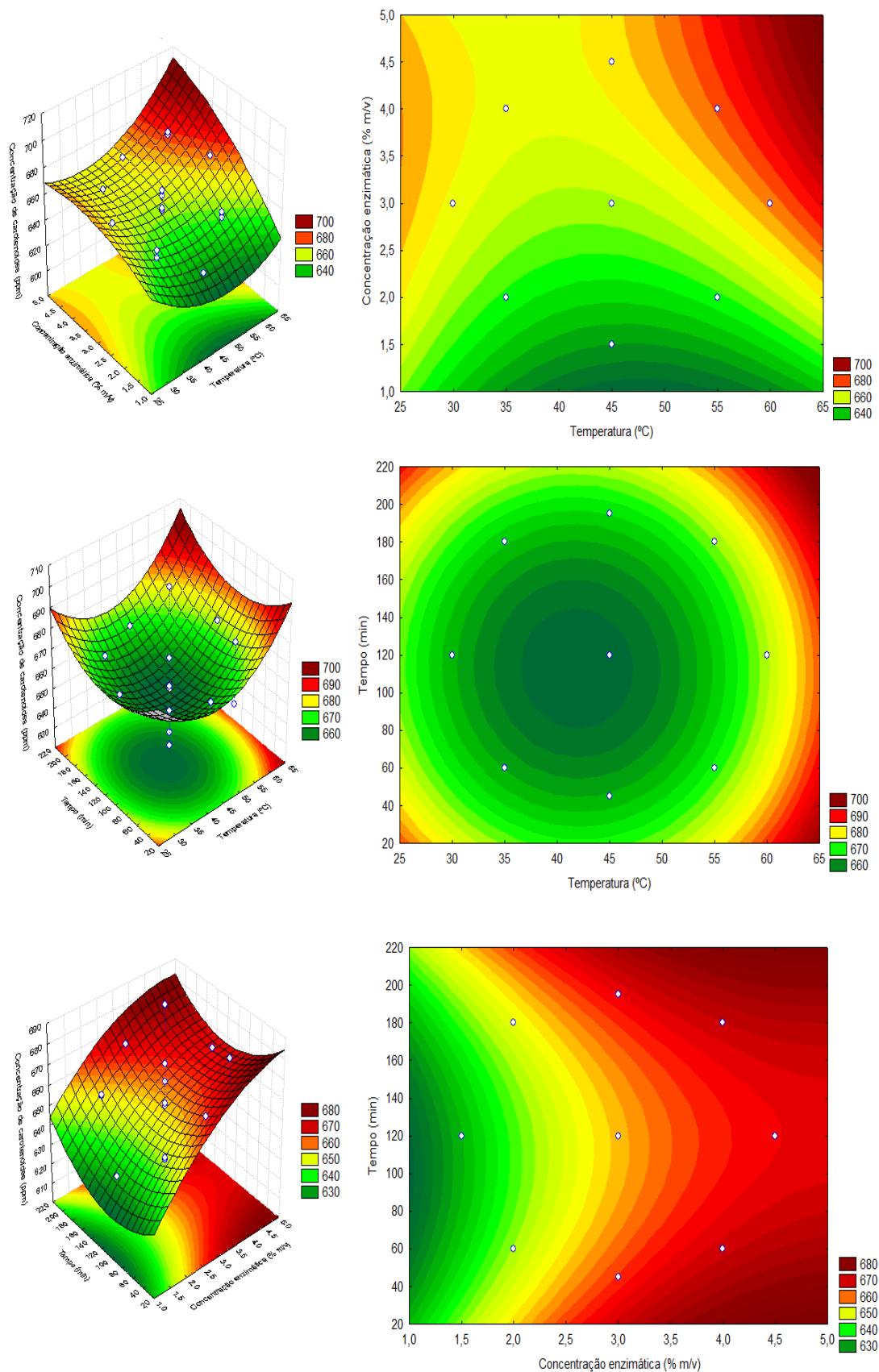


Figura 24. Superfície de resposta e curva de contorno para efeito da concentração com temperatura, tempo com temperatura e tempo com concentração da ação da celulase no dendê sem prensar para a concentração de carotenoides.

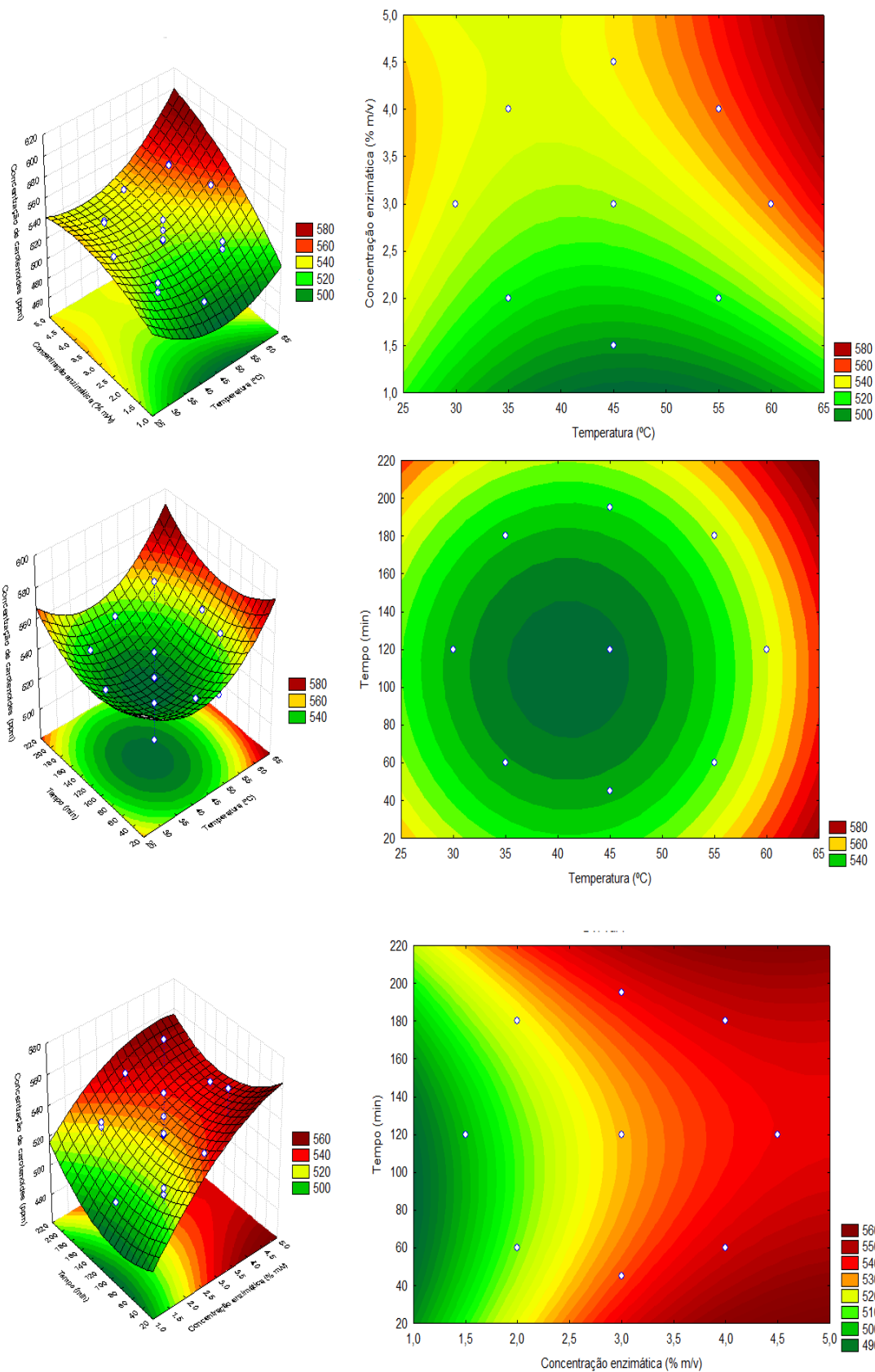


Figura 25. Superfície de resposta e curva de contorno para efeito da concentração com temperatura, tempo com temperatura e tempo com concentração da ação da pectinase no dendê prensado para a concentração de carotenoides.

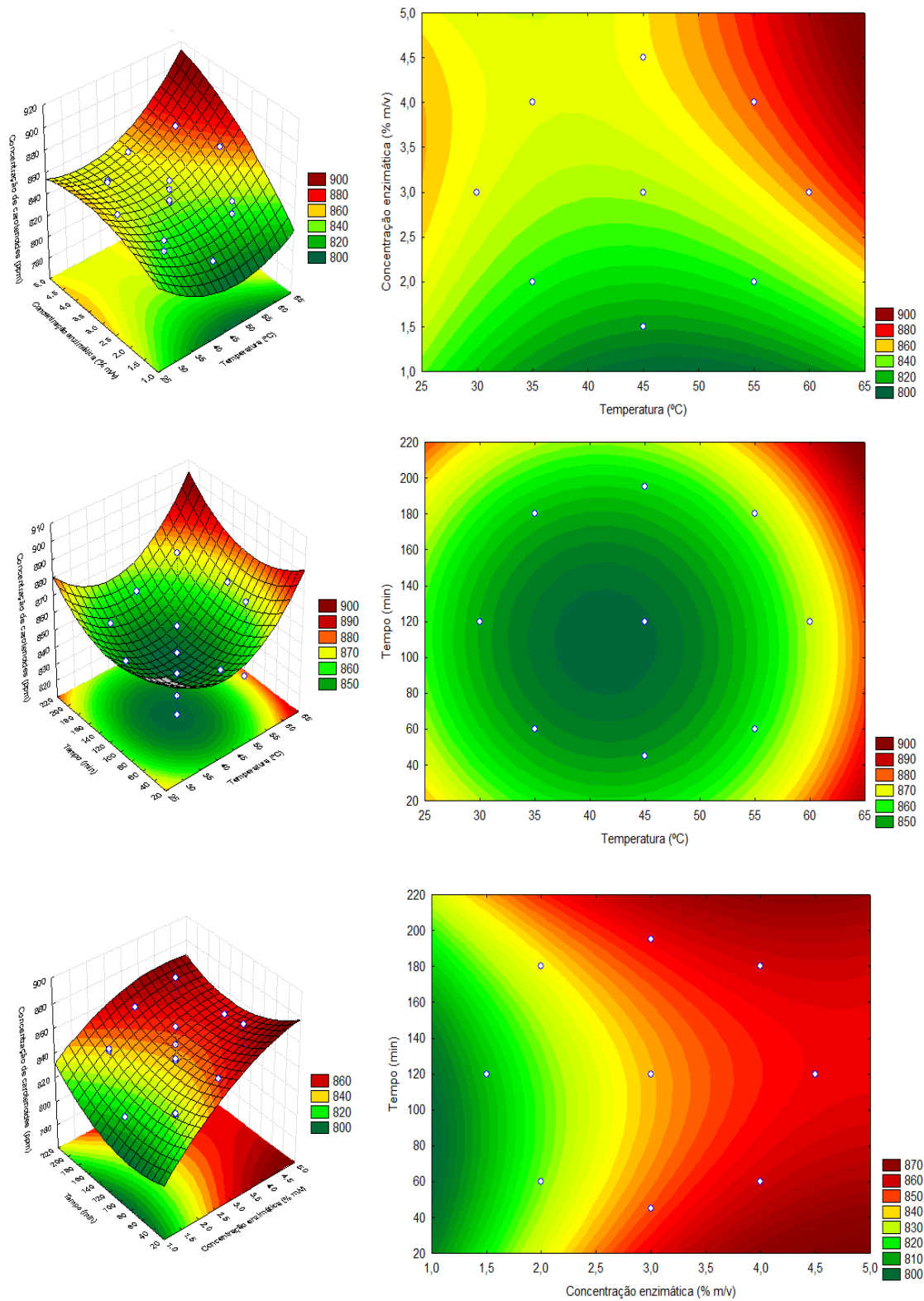


Figura 26. Superfície de resposta e curva de contorno para efeito da concentração com temperatura, tempo com temperatura e tempo com concentração da ação da pectinase no dendê sem prensar para a concentração de carotenoides.

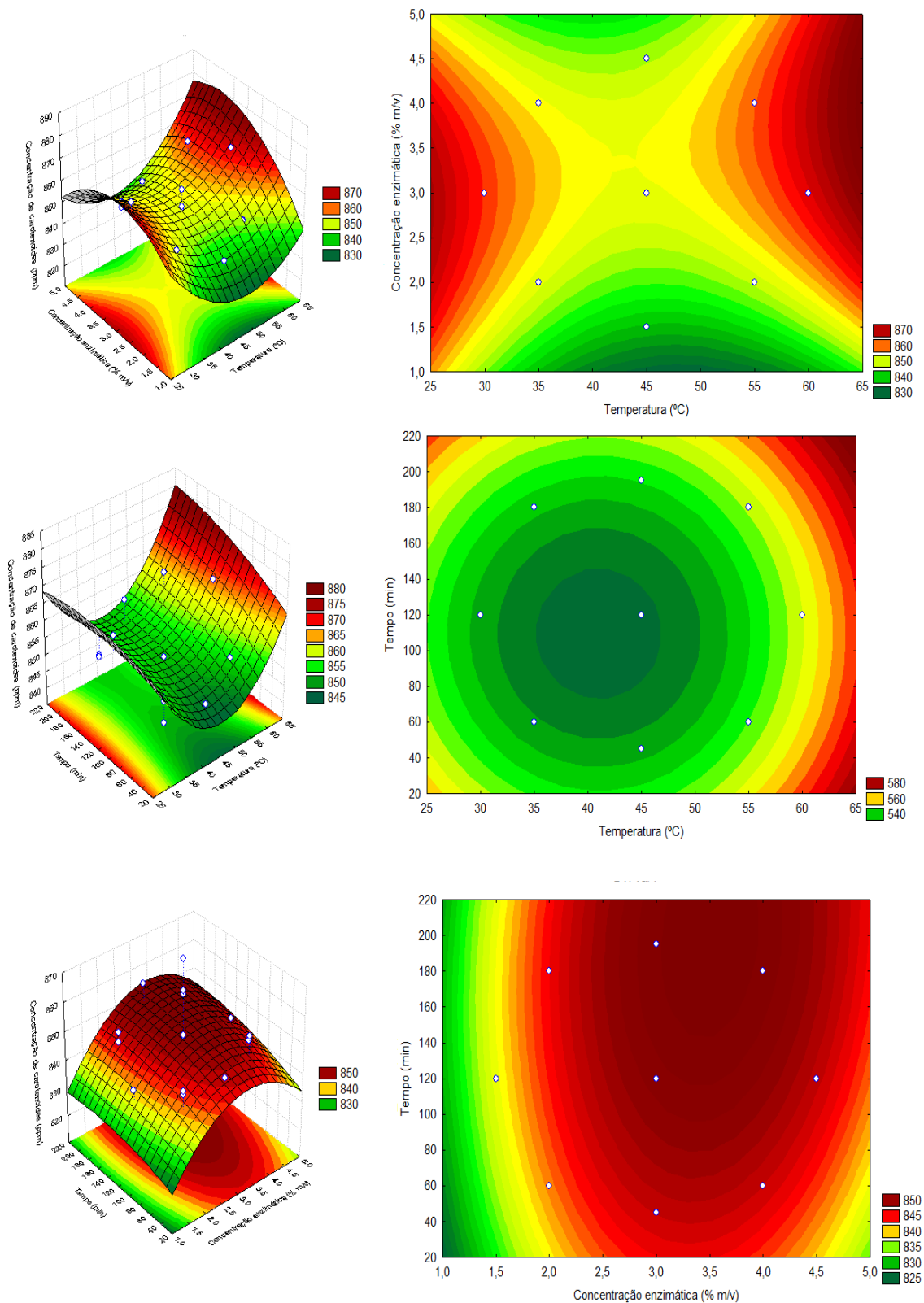


Figura 27. Superfície de resposta e curva de contorno para efeito da concentração com temperatura, tempo com temperatura e tempo com concentração da ação da alcalase no dendê prensado para a concentração de carotenoides.

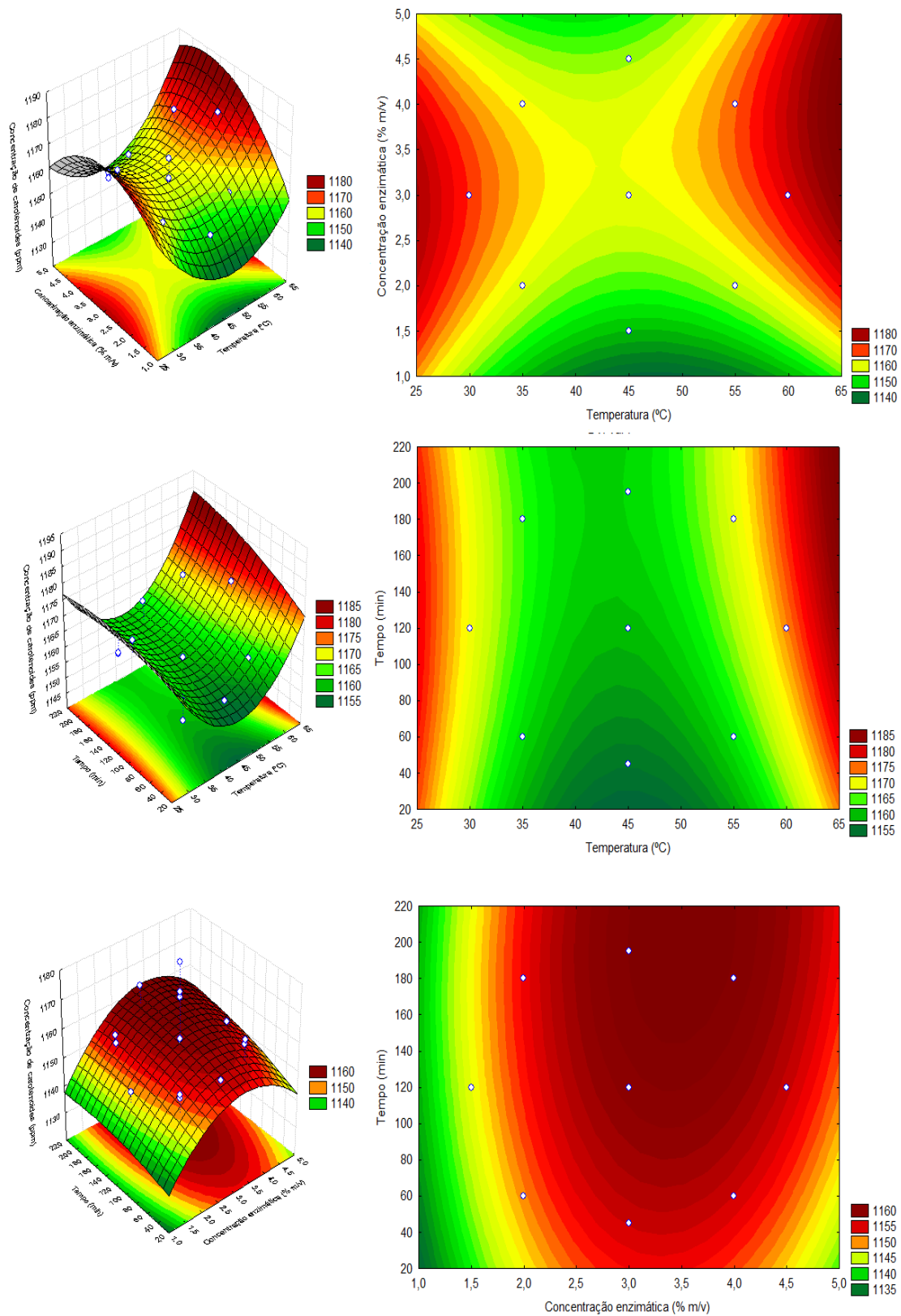


Figura 28. Superfície de resposta e curva de contorno para efeito da concentração com temperatura, tempo com temperatura e tempo com concentração da ação da alcalase no dendê sem prensar para a concentração de carotenoides.

Ao observar as superfícies de resposta do planejamento experimental enzimático, os melhores rendimentos são obtidos com o aumento da concentração enzimática a uma temperatura de 55-60 °C, enquanto o tempo de reação para a celulase e pectinase a melhor extração aconteceu a 60 mim e na alcalase as 120 mim. Sabendo que por se tratar de um planejamento que utiliza enzimas, a temperatura do meio reacional é um parâmetro importante para atividade enzimática máxima.

4.1.1. Validação experimental do modelo

Para validar o modelo, alguns experimentos foram feitos de forma aleatória e os resultados comparados com os valores preditos pelo modelo (Apêndice 6). Os resultados encontrados confirmam que os pontos experimentais podem ser explicados pelos modelos. A Tabela 14 apresenta os resultados para o rendimento do óleo.

Tabela 14. Validação experimental do modelo para o rendimento do óleo.

Ensaio	T (°C)	[E] (% m/v)	t de reação (min)	Rendimento de óleo (%)					
				CDP	CDSP	PDP	PDSP	ADP	ADSP
1	35	2	60	40,98	52,86	56,82	56,00	51,65	55,87
4	55	4	60	76,43	82,31	85,44	88,01	55,27	58,95
10	60	3	120	66,80	76,59	79,87	81,77	83,45	74,77
12	45	4,5	120	60,65	69,76	77,44	78,64	46,19	61,12

T=temperatura; [E]= concentração enzimática e t=tempo

Os resultados dos ensaios da validação do modelo para a concentração de carotenoides estão apresentados na Tabela 15. Onde se comprovou que os pontos experimentais também podem ser explicados pelos modelos descritos, já que os valores obtidos podem ser comparados com os valores preditos (Apêndice 7).

Tabela 15. Validação experimental do modelo para a concentração de carotenoides.

Ensaio	T (°C)	[E] (% m/v)	t de reação (min)	Concentração de carotenoides (ppm)					
				CDP	CDSP	PDP	PDSP	ADP	ADSP
1	35	2	60	436,64	653,67	513,84	829,76	850,61	1156,03
4	55	4	60	475,12	677,71	557,38	870,41	850,54	1156,40
10	60	3	120	467,09	673,92	551,93	867,41	866,98	1171,98
12	45	4,5	120	460,82	666,98	542,34	858,64	846,32	1153,54

T=temperatura; [E]= concentração enzimática e t=tempo

4.2. Extração do óleo por prensagem mecânica

A extração por prensagem mecânica foi realizada do fruto de dendê com semente, na Figura 16 pode se observar como foi o processo. O rendimento de extração obtido pela prensagem mecânica foi de 35% em massa de óleo em relação à massa do fruto. Este valor representa o 54% do valor total de óleo presente no fruto de dendê segundo Monteiro & Homma (2014).

O óleo obtido por prensagem foi comparado com os óleos de palma obtidos usando tecnologia enzimática, com o objetivo de saber qual tem melhor qualidade, os resultados serão discutidos a continuação.

4.3. Caracterização em função dos processos aplicados

Utilizando o ensaio mais adequado para cada enzima, o ensaio 4 (temperatura: 55 °C, concentração de enzima 4% e tempo 60 min.) para extração com celulase e pectinase e o 10 (temperatura: 60 °C, concentração de enzima 3% e tempo 120 min.) para alcalase; realizou-se a maceração para posteriormente analisar a qualidade das amostras, os resultados estão apresentados a continuação:

4.3.1. Compostos antioxidantes

4.3.1.1. Carotenoides totais

A determinação de carotenoides totais pelo método espectrofotométrico realizado em triplicata nas amostras extraídas usando o melhor ensaio para cada uma das enzimas estão apresentadas na Tabela 16:

Tabela 16. Teor de carotenoides totais presentes nas amostras de óleo.

		Carotenoides (ppm)
	Óleo bruto 3	669,52±0,834 ^e
Dendê prensado (DP)	Branco	398,53±0,6713 ^a
	Celulase	473,78±0,058 ^b
	Pectinase	560,68±0,173 ^d
	Alcalase	866,68±0,907 ^g
Dendê sem prensar (DSP)	Branco	519,10±0,849 ^c
	Celulase	680,67±0,387 ^f
	Pectinase	874,45±0,105 ^h
	Alcalase	1174,86±0,246 ⁱ

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey, a nível de 5%.

Os carotenoides são responsáveis pela cor do óleo de palma, eles agem como antioxidantes, capturam radicais livres e os neutralizam, ou seja os carotenoides protegem o óleo contra o processo oxidativo sobre os triacilgliceróis (EDEM, 2002; GUNSTONE, 2011; HENDLER & RORVIK, 2008).

Os resultados obtidos mostraram que o tratamento enzimático apresentou aumento no rendimento de extração de carotenoides totais para o óleo de palma. Todas as amostras tratadas foram diferentes estatisticamente ($p < 0,05$). O óleo extraído com alcalase apresenta uma maior concentração de carotenoides tanto para o DP como para o DSP. A celulase e a pectinase usada no DSP apresentam uma concentração maior comparada com o óleo bruto, no entanto comparando a concentração de carotenoides no DP com a óleo bruto apresenta-se valores menor.

As concentrações de carotenos totais obtidas no processo de extração enzimático de óleo de palma nas amostras de DP tiveram valor abaixo do óleo obtido por processo convencional de prensagem (500-700 ppm) de acordo com Choo (1994) e Peixoto (2004). Enquanto que para as amostras do DSP foram maiores.

Choon *et al.*, 2009 estudaram a extração e as propriedades físico-químicas do óleo cru de palma e encontrou uma concentração de 1142 ppm de carotenoides.

Teixeira *et al.*, (2013) utilizaram celulase, pectinase e tanase para extração de óleo de palma, quando usaram a Pectinase/celulase obtiveram uma concentração de carotenoides de 1268,69 mg/kg; Pectinase/celulase/tanase 488,91 mg/kg e usando só tanase encontraram uma concentração de 499,74 mg/kg.

Choudhari & Ananthanarayan (2007) empregaram pectinase e celulase para extração de licopeno dos tecidos de tomate e obtiveram aumento no rendimento de extração de 198% em relação ao controle (132 $\mu\text{g/g}$) para amostras tratadas com celulase e 224%(108 $\mu\text{g/g}$) para amostras tratadas com pectinase.

O presente estudo indica uma possível atividade da alcalase na liberação de carotenoides na extração aquosa do óleo de palma mesmo que o rendimento de extração de óleo seja menor comparado com as outras duas enzimas. Nenhum estudo avaliando o efeito dessa enzima para extração de carotenoides do dendê foi publicado ainda.

4.3.1.2. Fenóis totais

As análises de fenóis totais feitas utilizando o reagente de Folin-ciocalteu para as amostras de óleo extraído com enzimas estão apresentadas na Tabela 17.

Tabela 17. Resultados para Fenóis Totais no óleo e efluentes dos processos.

		Comp. Fenólicos do óleo (mgEAG/100g)	Comp. Fenólicos dos efluentes (mgEAG/100g)
Óleo bruto 3		20,35±0,265 ^a	--
Dendê prensado (DP)	Branco	25,16±0,010 ^b	63,41±0,176 ^b
	Celulase	36,35±0,265 ^d	81,97±0,088 ^d
	Pectinase	35,53±0,176 ^d	121,22±0,265 ^h
	Alcalase	44,1±0,265 ^e	90,35±0,276 ^f
Dendê sem prensar (DSP)	Branco	24,35±0,265 ^b	67,85±0,972 ^c
	Celulase	22,78±0,530 ^b	61,28±0,176 ^a
	Pectinase	24,14±0,176 ^b	86,41±0,530 ^e
	Alcalase	29,1±0,618 ^c	106,28±0,018 ^g

*EAG=equivalente ácido gálico. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey, a nível de 5%.

A concentração de polifenóis totais no fruto do dendê sem prensar foram de 117,66 ±0,530 miligrama de equivalente ácido gálico (mgEAG/100g) por 100 gramas de polpa seca e para o dendê prensado foi de 85,91 ±0,353. Os efluentes aquosos do processo revelam que as enzimas apresentaram atividade na matriz lipídica (polpa de dendê). O aumento na concentração de fenóis totais nestas amostras sugerem que as enzimas tenham hidrolisado alguns polifenóis de maior cadeia e solubilizado na água do processo.

Os resultados de fenóis totais para o óleo revelam que foram detectados baixos valores de fenóis adsorvidos no óleo bruto de palma. As médias apresentaram valores aproximados com pouca diferença significativa entre si ($p < 0,05$). As amostras extraídas com alcalase apresentaram valores de 44,1±0,265 mgEAG/100g para DP e 29,1±0,618 mgEAG/100g para DSP as duas apresentam um aumento em relação as outras amostras. As amostras extraídas com celulase e pectinase de DSP tiveram valores abaixo do óleo bruto e próximo ao seu branco, no entanto, essa diferença não foi estatisticamente significativa; as amostras extraídas com celulase e pectinase também não apresentam diferença significativa entre sim.

De Faveri *et al.*, (2008) investigou a melhora de conteúdo de compostos fenólicos e atividade antioxidante no óleo usando um tratamento enzimático (celulase, pectinase e

hemicelulase) os resultados demonstraram que uma elevada concentração de enzimas leva a obter um maior teor de compostos fenólicos nos óleos.

Neo *et al.*, (2010) identificaram oito tipos de ácidos fenólicos presentes na polpa de dendê (*E. guineensis*) sendo que o ferrúlico, p-hidroxibenzóico e p-cumárico foram os ácidos fenólicos majoritários na polpa variando de 55 a 376 $\mu\text{g/g}$ base seca.

Szydłowska-Czerniak *et al.*, (2011) identificaram o conteúdo total de compostos fenólicos no óleo de palma refinado que apresentaram valores de 4.1–12.4 mg ácido gálico/100 g.

Neste trabalho os resultados obtidos na quantificação de compostos fenólicos se encontram na média comparados com os valores obtidos por Teixeira *et al.*, (2013) onde utilizaram enzimas: Celluclast 1,5L (Novo-zymes, Paraná, Brazil), Pectinase Multieffect FE (Genencor Int. Rochester, NY) e tanase para extração aquosa de óleo de palma e encontraram um teor de polifenóis para a amostra extraída com pectinase/ celulase de $21,43 \pm 0,58$ mgEAG/kg, para pectinase/celulase/tanase de $14,76 \pm 1,00$ mgEAG/kg e para a tanase de $26,43 \pm 0,58$ mgEAG/kg.

4.3.1.3. Capacidade antioxidante pelo método ABTS

As análises de ABTS foram realizadas em todas as amostras de óleo de palma. Os resultados são apresentados na Tabela 18:

Tabela 18. Capacidade antioxidante no óleo de palma.

		Capacidade antioxidante ($\mu\text{mol Trolox/g}$ óleo)
	Óleo bruto 3	$94,23 \pm 0,173^{\text{d}}$
Dendê prensado (DP)	Branco	$87,51 \pm 0,134^{\text{b}}$
	Celulase	$66,91 \pm 0,750^{\text{a}}$
	Pectinase	$99,32 \pm 0,886^{\text{c}}$
	Alcalase	$147,49 \pm 0,629^{\text{h}}$
Dendê sem prensar (DSP)	Branco	$131,44 \pm 0,332^{\text{f}}$
	Celulase	$93,83 \pm 0,386^{\text{c}}$
	Pectinase	$124,95 \pm 0,950^{\text{f}}$
	Alcalase	$168,65 \pm 0,721^{\text{i}}$

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey, a nível de 5%.

Os resultados mostraram que a amostra de óleo extraída com pectinase (DP= $99,32 \pm 0,886$ $\mu\text{mol Trolox/g}$ óleo e DSP= $124,95 \pm 0,950$ $\mu\text{mol Trolox/g}$ óleo) e

alcalase (DP=147,49±0,629 µmol Trolox/g óleo e DSP= 168,65±0,721 µmol Trolox/g óleo) tiveram maior potencial antioxidante que as amostras extraídas com celulase (DP=66,91±0,750 µmol Trolox/g óleo e DSP= 93,83±0,386 µmol Trolox/g óleo), além disso, diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey (p<0,05). Comparando a capacidade antioxidante do óleo bruto (94,23±0,173 µmol Trolox/g óleo) e os brancos (DP=87,51±0,134 µmol Trolox/g óleo e DSP= 131,44±0,332 µmol Trolox/g óleo) com o óleo extraído com enzimas, indica que a presença de algumas enzimas é significativa para o aumento da atividade antioxidante.

Szydłowska-Czerniak *et al.*, (2011) estudou a capacidade antioxidante pelo método DPPH no processo de refino do óleo de dendê e encontrou valores de 98.2±2.3 µmol TE/100 g de óleo no óleo bruto.

Neo *et al.*, (2010) encontrou valores de 258,34-555,62 µg TE no óleo bruto pelo método ABTS, enquanto Durmaz (2012) reportou 1500 µg TE/g de óleo. Czernick *et al.*, (2011) encontrou uma concentração antioxidantes de 18,8-135,4 µmol TE/100 g de óleo usando o método por DPPH no óleo bruto.

Da mesma forma e como foi ilustrado por outros autores, este trabalho apresenta valores de capacidade antioxidante dentro da média, tanto para os brancos como para os óleos extraídos por prensagem e por maceração enzimática.

4.3.2. Caracterização físico química do óleo

4.3.2.1. Cor

A Tabela 19 mostram os valores médios das coordenadas de cor no espaço CIELAB dos óleos analisados. Tais dados estão na faixa correspondente a valores positivos para a*, b*, c* L e H, com um predomínio de pigmento laranja, mostrado pelos valores de b*.

Tabela 19. Análises de cor do óleo de palma.

		L	a*	b*	c*	H
	Óleo bruto 3	18,80±0,020 ^a	21,29±0,031 ^b	24,92±0,169 ^d	32,60±0,230 ^c	49,49±0,180 ^c
Dendê prensado	Branco	19,60±0,069 ^e	20,26±0,160 ^e	19,81±0,211 ^g	28,33±0,265 ^f	44,36±0,075 ^d
	Celulase	22,76±0,123 ^e	24,50±0,226 ^e	29,85±0,212 ^h	38,62±0,305 ^g	50,63±0,064 ^e
	Pectinase	20,36±0,031 ^b	23,21±0,078 ^a	23,47±0,278 ^a	32,98±0,218 ^a	45,28±0,206 ^a
	Alcalase	22,95±0,040 ^c	24,79±0,056 ^d	31,68±0,115 ^c	40,22±0,075 ^c	51,96±0,146 ^b
Dendê sem prensar	Branco	28,62±0,035 ^g	21,63±0,065 ^b	21,77±0,149 ^b	30,69±0,136 ^b	45,19±0,145 ^b
	Celulase	21,57±0,044 ^d	22,35±0,156 ^c	26,24±0,202 ^e	34,47±0,242 ^d	49,58±,148 ^c
	Pectinase	22,92±0,119 ^e	23,29±0,193 ^d	28,69±0,078 ^f	36,95±0,151 ^e	50,93±0,203 ^d
	Alcalase	24,96±0,181 ^f	32,60±0,257 ^f	49,07±0,367 ⁱ	58,91±0,442 ^h	56,41±0,021 ^f

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey, a nível de 5%.

A cor do óleo de palma varia do amarelo claro até o laranja-avermelhado, devido à quantidade de carotenoides no fruto, além do nível de oxidação provocado pelas lipoxigenases em frutos escurecidos estocados por longos períodos de tempo antes de serem processados (EDEM, 2002 & CURVELO et al, 2011).

Como pode ser observado na Tabela 19, o óleo extraído com a enzima alcalase apresenta valores mais altos de a* [(intensidade de vermelho, variando de verde a vermelho (-a/+a)] e b* [(intensidade de amarelo, variando de azul a amarelo a (-b/+b))], devido a que a concentração de carotenoides também é maior, o que pode ser ocasionado pela presença de pigmentos liberados devido à hidrólises enzimática. As amostras utilizadas como branco apresentam valores baixos de a* e b*, devido a uma menor concentração de carotenoides (Tabela 16).

Nattaporn e Porjai (2015) estudaram a recuperação de óleo de palma de fritura usado casca de arroz e encontraram valores de L, a* e b* de 41,3; 35,65 e 65,7 respectivamente.

Sunilkumar e Babu (2013) pesquisaram a mudança de cor do óleo de palma durante o amadurecimento do fruto e encontraram valores de 42,48; 23,00 e 37,84 para L, a* e b*.

4.3.2.2. Ácidos graxos livres

Os valores dos ácidos graxos livres das amostras de óleo de palma obtidas pela extração enzimática com celulase, pectinase e alcalase do dendê prensado e do dendê sem prensar estão apresentados na Tabela 20:

Tabela 20. Análises de ácidos graxos livres para o óleo de palma.

		AGL (%)
Dendê prensado (DP)	Óleo bruto 3	5,30±0,249 ^a
	Branco	2,53±0,042 ^g
	Celulase	5,22±0,104 ^g
	Pectinase	4,46±0,042 ^f
	Alcalase	4,17±0,053 ^e
Dendê sem prensar (DSP)	Branco	3,46±0,070 ^c
	Celulase	3,88±0,044 ^d
	Pectinase	3,09±0,017 ^b
	Alcalase	3,51±0,029 ^c

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey, a nível de 5%.

A concentração de ácidos graxos livres no óleo bruto pode variar dependendo da fonte e das técnicas de extração utilizadas. O aumento de ácidos graxos livres (AGL) é responsável pela diminuição no valor de ácidos graxos polinsaturados (C18:2) que são os mais suscetíveis à hidrólise (GIBON *et al.*, 2007). Os valores médios para ácidos graxos livres (mg KOH/g), nas amostras analisadas, encontram-se embaixo do limite estabelecido pela legislação nacional (10 mg KOH/g) (ANVISA, 2005).

De acordo com Saad *et al.*, (2006), o teor de AGL no óleo de palma pode variar entre 2,3 – 6,7 %. Na Tabela 19 pode-se observar que os valores encontram-se dentro da faixa; comparando todos os AGL das amostras pode-se observar que não todos os valores apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$).

Isto quer dizer que a extração enzimática é uma boa alternativa para obter um óleo como com melhores propriedades, já que o teor de AGL é um dos índices de qualidade mais frequentemente utilizados durante a produção, armazenamento e comercialização dos produtos obtidos a partir do óleo de palma, sendo que o preço do óleo é ditado em função do seu teor de ácidos graxos livres (GIBON *et al.*, 2007). Segundo Sampaio *et al.*, (2011) quanto menor a porcentagem de AGL, maiores são as garantias relacionadas à qualidade do fruto utilizado e as condições de armazenamento e transporte do óleo.

Segundo Gibon *et al.*, (2007), o fruto da palma possui uma enzima endógena, conhecida como triacilglicerol acilhidrolase, a qual é responsável pela rápida degradação dos triacilgliceróis em acilgliceróis parciais e posteriormente em ácidos graxos livres. A esterilização do cacho do dendê foi feita para eliminar este tipo de enzimas responsáveis pela hidrólise dos triacilgliceróis, oxidação de polifenóis e carotenos.

Uma grande quantidade de ácidos graxos livres indica que o produto está em acelerado grau de deterioração. A principal consequência disso é que o produto torna-se mais ácido. Um elevado índice de acidez indica, portanto, que o óleo ou gordura está sofrendo quebras em sua cadeia de trigliceróis, liberando seus constituintes principais: os ácidos graxos. (ALVES et al, 2009).

4.3.2.3. Estabilidade oxidativa

A estabilidade oxidativa dos óleos de palma extraídos com as diferentes enzimas estão apresentados na Tabela 21:

Tabela 21. Análises de estabilidade oxidativa dos óleos de palma.

		Estabilidade oxidativa (horas)
		Óleo bruto 3
		3,82 ^c
Dendê prensado (DP)	Branco	3,06 ^d
	Celulase	3,08 ^a
	Pectinase	3,51 ^b
	Alcalase	4,87 ^e
Dendê sem prensar (DSP)	Branco	5,73 ^h
	Celulase	4,91 ^f
	Pectinase	5,15 ^g
	Alcalase	6,33 ⁱ

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey, a nível de 5%.

Para análise de estabilidade oxidativa (Rancimat), é possível verificar que o tratamento enzimático teve efeito significativo de acordo com o teste de Tukey a 5% de confiabilidade.

Os óleos extraídos com a enzima alcalase apresentam uma estabilidade oxidativa de 4,87 para o DP e 6,33 para o DSP e são os valores mais altos comparados com os óleos extraídos com as outras enzimas; o que sugere que a enzima alcalase tenha liberado mais compostos antioxidantes no óleo. O óleo bruto (extraído por prensagem) apresenta um valor de 3,82, sendo um valor menor do que os óleos extraídos do DP e maior do que extraído do DSP.

Os óleos extraídos a partir do dendê sem prensar apresentam maior estabilidade oxidativa do que os extraídos do dendê prensado, os quais também apresentaram uma elevada quantidade de antioxidantes naturais, tais como carotenoides e segundo Matthäus (2007), Berger (2005) e Sharmin *et al.*, (2015) a estabilidade oxidativa está ligada à

presença de antioxidantes naturais, tais como carotenoides, tocoferóis e tocotrienóis e baixa quantidade de ácido linoléico (2-11%) e linolênico (0,1 0,4%).

Cabe salientar que a estabilidade oxidativa dos óleos está intimamente relacionada com o grau de insaturação dos mesmos, de forma que os ácidos graxos insaturados são mais sensíveis à oxidação do que os saturados (OGAN *et al.*, 2015).

Teixeira (2011) usou pectinas, celulase e tanase para extração de óleo e encontrou uma estabilidade de 5,35 quando usava pectinase+celulase, de 5,81 com pectinase+celulase+tanase e 5,52 usando só a tanase, mostrando assim que o óleo de palma tem boa estabilidade, a qual não tem muita variação apesar de usar-se diferentes tratamentos enzimáticos.

4.3.2.4. Perfil de ácidos graxos

A variedade na proporção de ácidos graxos presentes nas variedades de óleo vegetais, e conseqüentemente em seus derivados tem influência direta na sua capacidade de resistir aos processos degradativos (MELO, 2008). O perfil de ácidos graxos foi determinado para todos os tratamentos enzimáticos aplicados na Tabela 22 são apresentados os valores dos perfis de ácidos graxos realizados para as amostras de óleo extraídas:

Tabela 22. Perfil de ácidos graxos das amostras de óleo de palma

Ácidos graxos	OB1				OB2				OB3
	Branco	Celulase	Pectinase	Alcalase	Branco	Celulase	Pectinase	Alcalase	
Ác. Caprílico (C8:0)	0,09	0,08	0,03	0,03	0,10	0,11	0,08	0,03	0,02
Ác. Cáprico (C10:0)	0,06	0,04	0,01	0,01	0,02	0,03	0,07	0,01	0,05
Ác. Lauríco (C12:0)	0,10	0,09	0,06	0,12	0,34	0,13	0,11	0,09	0,20
Ác. Tridecanóico (C13:0)	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Ác. Mirístico (C14:0)	1,34	1,12	1,10	1,28	1,38	1,20	1,15	1,24	0,70
Ác. Pentadecílico (C15:0)	0,00	0,05	0,04	0,04	0,04	0,04	--	0,04	0,06
Ác. Palmítico (C16:0)	43,93	43,12	43,51	43,95	43,94	44,00	43,55	44,67	46,72
Ác. Palmitoléico (C16:1, ω -7)	0,23	0,02	0,02	0,02	0,23	0,22	0,21	0,02	0,10
Ác. Margárico (C17:0)	0,08	0,07	0,09	0,07	0,07	0,07	0,08	0,09	--
Ác. Esteárico (C18:0)	4,01	4,03	4,03	4,03	4,08	4,04	4,16	3,82	2,94
Ác. Oléico (C18:1, ω -9)	39,57	41,09	40,71	39,72	39,36	39,78	39,98	39,33	38,21
Ác. Linoléico (C18:2, ω -6)	9,96	9,86	9,98	10,33	9,95	9,96	9,93	10,28	10,75
Ác. Linolênico (C18:3, ω -3)	0,29	0,29	0,28	0,27	0,30	0,29	0,29	0,26	0,25
Ác. Araquídico (C20:0)	0,31	0,10	0,10	0,09	0,09	0,08	0,32	0,08	--
Ác. Béntico (C22:0)	0,03	0,04	0,04	0,04	0,05	0,05	0,07	0,04	--
Saturação dos ácidos graxos									
Saturados	49,95	48,74	49,01	49,66	50,11	49,75	49,59	50,11	50,69
Insaturados	39,8	41,11	40,73	39,74	39,59	40,00	40,19	39,35	38,31
Polinsaturados	10,25	10,15	10,26	10,6	10,25	10,25	10,22	10,54	11,00

A partir dos dados obtidos é possível notar que não houve variação entre os métodos empregados, considerando que em todos os métodos os ácidos que prevalecem são o palmítico e oleico, respectivamente, de acordo com a composição peculiar do óleo de palma e isto concorda com os dados do perfil da Agropalma (2009) que apresentou valores de 35-47% para o ácido palmítico 36-47% para o ácido oleico. Em outra pesquisa feita por García de Sotero *et al.*, (2008) apresentou-se valores de $36,50 \pm 0,48\%$ de ácido oleico e $45,24 \pm 0,13\%$ de ácido palmítico.

O ácido graxo linoleico, quando presente na alimentação humana, pode reduzir o colesterol no plasma sanguíneo e, por consequência, o fator de risco de doenças cardiovasculares. O ácido graxo oleico confere ao óleo uma maior estabilidade oxidativa durante o processo de refino, estocagem e fritura, além dos benefícios à saúde, como aqueles proporcionados pelo ácido graxo linoleico. Na Figura 29 é observada a relação entre ácido oleico e linoleico que permite saber a estabilidade do óleo extraído. Também é possível observar que os processos não modificaram o perfil de ácidos graxos do óleo de palma.

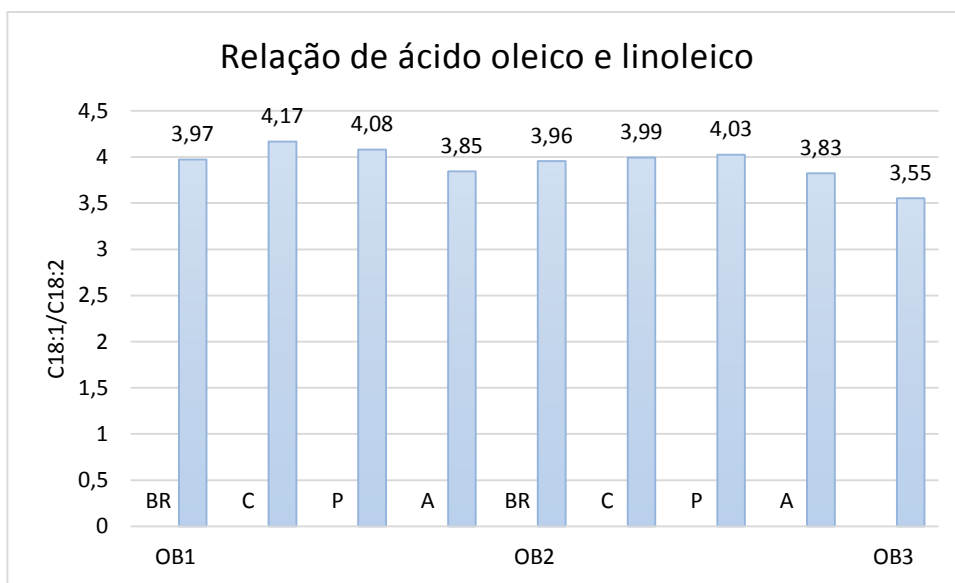


Figura 29. Relação das concentrações de ácido oleico e linoleico.

Segundo Freire (2010), se o valor da relação é maior que 2,0 indica que o óleo tem grande resistência à rancificação. Os valores apresentados da relação entre as médias de oleico e linolênico mostraram que as amostras celulase, pectinase, alcalase, brancos e óleo bruto apresentam maior teor de linoleico em relação ao oleico.

5. CONCLUSÕES

- Foi observado na matriz que o maior valor de rendimento de óleo aconteceu no ensaio 4 (temperatura: 55 °C, concentração de enzima 4% e tempo 60 min.) para a celulase e pectinase; e o 10 (temperatura: 60 °C, concentração de enzima 3% e tempo 120 min.) para alcalase tanto para o dendê prensado como para o dendê sem prensar. Gerando valores para os ensaios 4 de 76,57% no DP; 81,57% para o DSP usando celulase; 87,58% no DP e 88,83% no DSP usando a enzima pectinase; para alcalase os valores foram de 70,20% para o DP e 73,33% para o DSP.
- Foi observado na matriz que o maior valor de extração de carotenoides aconteceu no ensaio 4 (temperatura: 55 °C, concentração de enzima 4% e tempo 60 min.) para a celulase e pectinase; e o 10 (temperatura: 60 °C, concentração de enzima 3% e tempo 120 min.) para alcalase tanto para o dendê prensado como para o dendê sem prensar. Gerando valores para os ensaios 4 de 473,78 ppm no DP; 680,67 ppm para o DSP usando celulase; 560,68 ppm no DP e 874,45 ppm no DSP usando a enzima pectinase; para alcalase os valores foram de 866,42 ppm para o DP e 1174,86 ppm para o DSP.
- A análise estatística dos efeitos demonstrou que a concentração de enzima foi a variável mais significativa do processo de extração aquosa enzimática, em nível de 5% de confiabilidade para Teste t de student.
- Se encontrou que os óleos extraídos com alcalase apresentam uma maior quantidade de carotenoides, compostos fenólicos, atividade antioxidante e estabilidade oxidativa, porém o rendimento de extração de óleo e menor comparado com as outras enzimas. Entretanto levando-se em consideração se poderia fazer uma mistura das enzimas para obter um óleo com maior rendimento de extração e alta concentração de antioxidantes.
- O rendimento de óleo e a concentração de carotenoides poderiam aumentar com a mistura das enzimas. Neste caso a pectinase e a alcalase, já que a pectinase apresentou os valores mais altos na extração de óleo, enquanto a alcalase apresentou teores altos na extração de compostos antioxidantes.

- A atividade antioxidante teve um aumento significativo quando se comparou o óleo extraído por prensagem e o óleo obtido por maceração enzimática.
- A adição de enzimas a um processo mecânico de prensagem convencional pode aumentar o rendimento de extração de óleo e de compostos antioxidantes como carotenoides.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDULKARIM SM, LONG K, LAI OM, MUHAMMAD SKS, GHAZALI HM. Some physico-chemical properties of Moringa oleifera seed oil extracted using solvent and aqueous enzymatic methods. **Food Chem.** 93(2):253-263, 2005.

ABE LT, MOTA RV DA, LAJOLO FM, GENOVESE MI. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas Vitis labrusca L. e Vitis vinifera L. **Ciência e Tecnol Aliment.** 2007; 27(2): 394-400.

ABIDI, S.L. Chromatographic analysis of tocol-derived lipid antioxidants. **Journal of Chromatography A**, v. 881, p. 197-216, 2000.

AGROPALMA www.agropalma.com.br, 2009. Ac 27 dic. 2015.

ALBERSHEIN, P. Pectin lyase from fungi. **Methods in Enzymology**, v. 8, 628-631, 1966

ALKORTA, I.; GARBISU, C.; LLAMA, M. J.; SERRA, J. L. Industrial Application of pectic enzymes: a review. **Process Biochem.**, v.33, n.21, 1998.

ALVES, R. F.; GUIMARÃES, S. M.; ABREU T. C.; SILVA, R. D. Índices de Acidez Livre e de Peróxido. Relatório para a Disciplina de Bioquímica, Curso Técnico de Química Industrial, Centro de Educação Profissional Hélio Augusto de Sousa, São José dos Campos, SP, 2009.

AMBRÓSIO, C. L. B.; SIQUEIRA CAMPOS, F. A. C.; FARO, Z. P. Carotenóides como alternativa contra a hipovitaminose A. **Revista de Nutrição**, v.19, n.2, Campinas, 2006.

ANVISA. Resolução RDC nº 270, de 22 de setembro de 2005. Agência Nacional de Vigilância Sanitária aprova o “REGULAMENTO TÉCNICO PARA ÓLEOS VEGETAIS, GORDURAS VEGETAIS E CREME VEGETAL”. Diário Oficial da União, Brasília, 23 de Setembro de 2005.

ANVISA - Agência Nacional da Vigilância Sanitária. Adulteração de Produtos de Origem Vegetal: óleos. 2005. Disponível em: < <http://www.anvisa.gov.br> > Acesso em: 05 agos. 2015.

AOCS. American Oil Chemists Society. “**Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists’ Society**”. 5^o edition, Champaign, 2002.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis of AOAC international**. 18. ed., Washington, 2011.

APAR DK, ÖZBEK B. Corn gluten hydrolysis by Alcalase: Effects of process parameters on hydrolysis, solubilization and enzyme inactivation. **Chem Biochem Eng.** 22(2):203-212, 2008.

AQUINO, ANDREA CARDOSO DE. Estudo da Ampliação da Escala na Produção de Néctar de Bacuri (*Platonia insignis Martius*) com Aplicação de Preparações Enzimáticas Comerciais. **Tese de Doutorado**, Fortaleza, Ce, 2012.

ARORA, S., MANJULA, S., KRISHNA, A. G., & SUBRAMANIAN, R. Membrane processing of crude palm oil. **Desalination**, 191, 454-466, 2006

BARBOSA, D. M.; NAOE, L. K.; ZUNIGA, A. D. G. Avaliar o teor de lipídios em sementes de soja cultivadas no Estado de Tocantins. In: 14^o Jornada de Iniciação Científica da Unitins. Anais UNITINS, **PalmasTO**, p.32-37. 2007.

BARCCELOS, E. Orçamento padrão para implantação de dendeicultura. Manaus: **Embrapa Amazônia Ocidental**, 2002.

BATISTELLA, C. B., & MACIEL, M. R. Recovery of carotenoids from palm oil by molecular distillation. **Computers & Chemical Engineering**, 22, S53-S60, 1998.

BEYNON, R.J. & BOND, J.S. Proteolytic Enzymes: A practical Approach. New York: Oxyford University Press, 1996, 251p.

BENADÉ, A.J.S.: A place for palm fruit oil to eliminate vitamin A deficiency, Asia Pacific **Journal of Clinical Nutrition**, China, vol.3, n. 12, p. 369-372, 2003.

BENEVIDES, C.M.J; ALMEIDA, V.F.A; MIRANDA, K.E.S, COELHO, J.N.S: Determinação da composição centesimal e valor calórico de acarajés e abarás em Salvador – BA. **Revista Nutrição Brasil**, São Paulo, vol. 5, n.5, 2003

BERG, J. M., TYMOCZKO, J. L., & STRYER, L. (2004). *Bioquímica*. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan.

BERGER, K.G. The use of palm oil in frying. Frying oil series. Malaysian Palm Oil Promotion Council (MPOPC), Malasya 2005. Disponível em: <<http://www.mpoc.org>>. Acesso em: 12 de jan. 2016.

BORA P.S., ROCHA R.V.M., NARAIN N., MOREIRA-MONTEIRO A.C., MOREIRA R.A. Characterization of principal nutritional components of Brazilian oil palm (*Elaeis guineensis*) fruits. **Bioresour Technol.** 87(1):1-5, 2003.

BUGGENHOUT, S. V.; SILA, D. N.; DUVETTER, T.; LOEY, A. V.; HENDRINCKX, M. Pectins in Processed Fruits and Vegetables Part III- Texture Engineering. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, v. 8, p 105-117, 2009.

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

BHOSLE, B. M., & SUBRAMANIAN, R. New approaches in deacidification of edible oils a review. **Journal of Food Engineering**, 69, 2005, 69, 481-494.

BLOCK, G.; PATTERSON, B.; SUBAR, A. Fruit, vegetables, and cancer prevention: A review of the epidemiological evidence. **Nutrition and Cancer**, v. 18, p. 1-29, 1992.

BOBBIO, P.A.; BOBBIO, F.O. **Química do processamento de alimentos**. 3. ed., São Paulo: Varela, p. 103-118, 2001.

BORA, P.S, ROCHA, R.VOL.M. A, NARAIN N, MOREIRA-MONTEIRO, MOREIRA R.A: Characterization of principal nutritional components of Brazilian oil palm (*Elaeis guineensis*) fruits. **Bioresource Technology**, Palampur, n 87, p 1–5, 2003

BRITTON, G., LIAAEN-JENSEN, S., & PFANDER, H. Carotenoids, Vol 1A: **Isolation and Analysis**, Birkhäuser Verlag Basel, 1995.

BROINIZI, P. R. B.; ANDRADE-WARTHA, E. R. S.; OLIVEIRA E SILVA, A. M.; NOVOA, A. J. V.; TORRES, R. P.; AZEREDO, H. M. C.; ALVES, R. E.; MANCINIFILHO, J. Avaliação da atividade antioxidante dos compostos fenólicos naturalmente presentes em subprodutos do pseudofruto do caju. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.7, n. 4, Campinas, 2007.

BRUNCKHORST, H. O mercado mundial do óleo de palma e seus derivados numa economia globalizada. São Paulo **Grupo Agropalma**, 2000.

CARPITA N, TIERNEY M, CAMPBELL M. Molecular biology of the plant cell wall: Searching for the genes that define structure, architecture and dynamics. **Plant Mol Biol**. 2001;47 (1-2):1-5.

CARR, N.O.; HOGG W. F.: A manufacturer's perspective on selected palm-based products. **Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition**, China, vol.4, n. 14, p. 381-386, 2005.

CASTRO AM DE, PEREIRA JR N. Produção, propriedades e aplicação de celulases na hidrólise de resíduos agroindustriais. **Quim Nova**. vol 33(1):181-188, 2010.

CAVALCANTE, A. A. C. M.; SALVADOR, M.; LEITE, A. S. RÜBENSAM, G.; HENRIQUES, J. A. P. Compostos fenólicos, carotenos e vitamina C na atividade antioxidante do suco de caju e cajuína. **I Congresso de Pesquisa e inovação da rede Norte e Nordeste de Educação Tecnológica**. Rio Grande do Norte – Natal, 2006.

CHITARRA, M. I. F; CHITARRA, A. B. **Pós- colheita de frutas e hortaliças: Fisiologia e Manuseio**. 2º edição, Lavras: UFLA, 2005.

CHOO, Y.M.; NG, M.; NGAN, A.; CHUAH, C.H.; HASHIM, M.A.: Application of supercritical fluid chromatography in the quantitative analysis of minor components (carotenos, vitamin e, sterols, and squalene) from palm oil. **Journal of the American Oil Chemists` Society -Lipids**, Chicago, vol. 40, n. 4, p. 429-432, 2005.

CHOO, Y.M. Palm oil carotenoids. **Food Nutrition Bulletin**, v.15, n.2, p.130-137, 1994

CHOUDHARI, S. M. ; ANANTHANARAYAN, L. Enzyme aided extraction of lycopene from tomato tissues. **Food Chemistry**, v.102, p.77-81, 2007.

CHUANG, M.; BRUNNER, G.: Concentration of minor components in crude palm oil. **The journal of supercritical fluids**, vol. 37, p. 151-156, 2006.

COCERO, M. J., GONZÁLEZ, S., PÉREZ, S., & ALONSO, E. Supercritical extraction of unsaturated products. Degradation of β -carotene in supercritical extraction processes. **Journal of Supercritical Fluids**, 39-44, 2000.

CODEX ALIMENTARIUS (FAO/WHO). Codex standard for named vegetable oils. **Codex Stand 210** (Amended 2003-2005), 2003.

CURVELO, F. M., Uma Imersão no tabuleiro da baiana: O estudo do óleo de palma bruto (*Elaeis guineenses*). 2010. 103 f. **Dissertação** (Mestrado em Alimentos, Nutrição e Saúde) – Universidade Federal da Bahia, Salvador.

CURVELO F.M., ALMEIDA D.T., NUNES I.L., FEITOSA S. Communication B. para fritura de acarajés The quality of crude palm oil (*Elaeis guineensis*): raw material for deep-frying acarajés. 70(4):641-646, 2011.

CZERNIAK, A. S.; TROKOWSKI, K.; KARLOVITS, G.; SZLYK, E. Effect of refining processes on antioxidant capacity, total contents of phenolics and carotenoids in palm oils. **Food Chemistry**, vol. 129, p. 1187–1192, dez. 2011.

DA SILVA A., Maceração Enzimática Da Polpa de noni (*Morinda citrifolia* L.). 2010. **Dissertação** (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

DE FAVERI, D., ALIAKBARIAN, B., AVOGADRO, PEREGO, M.P., CONVERTI, A. Improvement of olive oil phenolics content by means of enzyme formulations: effect of different enzymatic activities and concentrations, **Biochemical Engineering Journal**. v.41, p.149–156, 2008.

DEL TORO-SÁNCHEZ, C.L., LARA-RODRÍGUEZ, A., JAVE-SUÁREZ, L.F., RAMOS-ZAVALA, L. GUTIÉRREZ-LOMELÍ, M., RODRÍGUEZ-SAHAGÚN, A., CASTELLANOS-HERNÁNDEZ, O.A., GUERRERO-MEDINA, P.J. Y MORALES-DEL RÍO, J.A. Extractos de *Anemopsis californica* contra líneas celulares cancerosas. VIII encuentro Participación Mujer en la Ciencia. León, Guanajuato, México. pp 1-5, 2011.

DI MASCIO, P.; KAISER, S.; SIES, H. Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlet oxygen quencher. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 274, p. 532-538, 1989.

DIVYA P., PUTHUSSERI B., NEELWARNE B., Carotenoid content, its stability during drying and the antioxidant activity of commercial coriander (*Coriandrum sativum* L.) varieties, **Food Res. Int.** 45 (2012) 342–350, 2012.

DURMAZ, G. Freeze-dried ABTS•+ method: A ready-to-use radical powder to assess antioxidant capacity of vegetable oils. **Food Chemistry**, vol. 133, p. 1658-1663, 2012.

EDEM, D.O. Palm oil: Biochemical, physiological, nutritional, hematological, and toxicological aspects: A review. **Plant Foods for Human Nutrition**, Dordrecht, vol. 57, p. 319-341, 2002

EITENMILLER, R.; LEE, J. **Vitamin E: food chemistry, composition and analysis**. New York: Marcel Dekker, p.530, 2004.

ESKIN, N. A. M.; SNAIT, T. Dictionary of nutraceuticals and functional foods. **Functional foods and nutraceuticals** series, n° 8. Boca Raton: CRC Press, Taylor & Francis.. p. 479-482 2006.

ESPINDOLA, S. M. C. G.; CAVALCANTE, A. K.; GONÇALVES, D. A. R. *et al.*, Avaliação do teor de óleos e da produtividade em linhagens de soja para cultivo no Cerrado. In: IX Simpósio Nacional Cerrado e II Simpósio Internacional Savanas Tropicais. Anais. **Embrapa Brasília-DF**. CD-ROM 1. 2008.

FERNANDEZ, R. X., SHIER, N. W., & WATKINS, B. A. Effect of alcali saponification, enzymatic hydrolysis and storage time on the total carotenoid concentration of Costa Rican crude palm oil. **Journal of Food Composition and Analysis**, 13, 179-187, 2000.

FEROLDI M, CREMONEZ PA, ESTEVAM A. Dendê: Do Cultivo Da Palma À Produção De Biodiesel. **Rev Monogr Ambient.** 13(5):3800-3808, 2014.

FERWERDA, J. D. Ecophysiology of the african oil palm. In: Alvim P. de (Coord.) **Ecophysiology of tropical crops**. Ilhéus: Ceplac v.2, p.1-49. 1975.

FONTANA, J. D.; MENDES, S. V.; PERSIKE, D. S.; PERACETTA, L.; PASSOS, M. Carotenoides: cores atraentes e ação biológica. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, n.13, p. 40-45, 2000.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. FAOSTAT: production oilcrops 2013. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/>>. Acesso em: 05 agost. 2015.

FOOTE, C. S.; CHANG, Y. C.; DENNY, R. W. Chemistry of singlet oxygen X carotenoid quenching parallels biological protection. **Journal of American Oil Chemists Society**, v. 92, p. 5216-5218, 1970.

FRACHEBOUD D, CANEVASCINI G. Isolation, purification, and properties of the exocellulase from *Sporotrichum* (*Chrysosporium*) thermophile. 1989.

FRANCIS, F. J. Handbook of food colorants patents. **Food and Nutrition Press.**, USA, 1986.

FRANÇA, L. F., & MEIRELES, M. A. Extraction of oil from pressed palm oil (*Elaeis guineensis*) fibers using supercritical CO₂. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 384-388, 1997. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20611997000400008>. Acesso em: 03 out. 2015.

FRANÇA, F. M. C.; BEZERRA, F. F.; MIRANDA, E. Q.; SOUSA NETO, J. M. Agronegócio do caju no Ceará: cenário atual e propostas inovadoras. Fortaleza: Federação das Indústrias do Estado do Ceará, Instituto de Desenvolvimento Industrial do Ceará, 2008.

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

GARCÍA DE SOTERO D, SANDOVAL DEL ÁGUILA J, SALDAÑA RAMÍREZ R. Fraccionamiento e interesterificación del aceite de palma (*Elaeis guineensis*) cultivado en la amazonia peruana. **Grasas y Aceites**. 59(2):104-109, 2008 .

GAZIANO, J. M. H. The role of beta-carotene in prevention of cardiovascular disease. **Ann. New York Acad. Sci.**, v.691, p.148-155, 1993

GEE, P.T.: Analytical characteristics of crude and refined palm oil and fractions. **European Journal of Lipid Science and Technology**, Weinheim, vol.109, p. 373–379, 2007.

GHOSE, T.K. **Measurement of cellulase activities**. *Pure & Appl. Chem.*, Vol. 59, Nº 2, p 257-258, 1987.

GIBON, V.; DE GREYT, W.; KELLENS, M. Palm Oil Refining. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* v. 109, pp. 315 – 335, 2007.

GODFREY T & WEST. *Industrial Enzymology*. 15 **Macmillan Publishers Ltd** United Kingdom. 1996

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.

GOMES, F. S. Carotenoides: uma possível proteção contra o desenvolvimento do câncer. **Revista de Nutrição**, v. 20, n.5, Campinas, 2007.

GROSS, J. **Pigments in vegetables**: chlorophylls and carotenoids. New York: AVI Book, 1991.

GUIL-GUERRERO, J. L., MARTINEZ-GUIRADO, C., REBOLLOSO-FUENTES, CARRIQUE-PÉREZ, A. Nutrient composition and antioxidant activity of 10 pepper. **Eur.Food Res. Technol**, n. 224, p. 1-9, 2006.

GUNSTONE, F. D. *Vegetable oils in food technology: Composition, properties and uses* (2nd ed.). West Sussex, UK: Blackwell Publishing Ltd. pp. 25–133, 2011.

HAEGELE, A. D; GILLETE, C.; O'NEIL, C.; WOLF, P.; HEIMENDIGER, J.; SEDLACEK, S. Plasma xanthophylls carotenoids correlate inversely with indices of oxidative DNA damage and lipid peroxidation. **Câncer epidemiol Biomarkers**, v.9, n.4, p. 421-425, 2000.

HAMZAH F, IDRIS A, SHUAN TK. Preliminary study on enzymatic hydrolysis of treated oil palm (Elaeis) empty fruit bunches fibre (EFB) by using combination of cellulase and 1-4 glucosidase. **Biomass and Bioenergy**. 35(3):1055-1059, 2011.

HENDLER, S. S., & RORVIK, D. PDR for nutritional supplements (2nd ed.). Montvale, NJ: Thomson Reuters, Physicians' Desk Reference, 2008.

HUNTERLAB. Applications note: CIE L* a* b* color scale. v. 8, n. 7, Virginia, 1996.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Lavoura permanente**. Disponível em. <<http://www.ibge.gov.br/cidadesat/link.php?uf=pa>>. Acesso em: 03 out. 2015.

JIANG L, HUA D, WANG Z, XU S. Aqueous enzymatic extraction of peanut oil and protein hydrolysates. **Food Bioprod Process**. 88(2-3):233-238, 2010.

KALIA VC, RASHMI, LAL S, GUPTA MN. Using Enzymes for Oil Recovery from Edible Seeds. **J Sci Ind Res (India)**. 60(4):298-310, 2001.

KASHYAP, D.R.; CHANDRA, S.; KAUL, A.; TEWARI, R. Production purification and characterization of pectinase from a Bacillus sp. DT7. **World Journal of Microbiology and Biotechnololy**, v.16, p. 277-282, 2000.

KELLENS, M.; GIBON, V.; HENDRIX, M.; GREYT, W.D.: Palm oil fractionation. **European Journal of Lipid Science and Technology**, Weinheim, n. 109, p. 336-349, 2007

KNOTHE, G., Dependence of Biodiesel Fuel Properties on the Structure of Fatty Acid Alkyl Esters. **Fuel Processing Technology**, v. 86, p. 1059-1070, 2005.

KOBLITZ, G.G.B. Bioquímica dos alimentos: teoria e prática. Rio de Janeiro: Ganabara Koogan, 2010. 2p

LARQUÉ, E.; ZAMORA, S.; GIL, A. Dietary Trans Fatty Acids in Early Life: A Review. **Early Hum Dev**. 2001;65 Suppl: S31-S41.

LEHALLE C.A., RIBEIRO S.M., DA SILVA N.N., COSTA A.R., SOUZA S.N. Caracterização físico-química do óleo de palma bruto (Elaeis guineenses)

comercializado em supermercados na cidade de Belém- PA. 14º Encontro de profissionais da química da Amazônia. 54-61, 2010.

LIETZ, G., & HENRY, C. J. A modified method to minimise losses of carotenoids and tocopherols during HPLC analysis of red palm oil. **Food Chemistry**, 60(1), 109-117, 1997

LOCK, S. Colorantes naturales. Lima: **Editorial PUPC**, 2006.

LODY, R. G. da M. Dendê: símbolo e sabor da Bahia. **Editora Senac** São Paulo, 2009. 149p.

LOPES, M. A. C.; ORTEGA-FLORES, C. I.; PENTEADO, M. V. D. C. Alterações estruturais in vivo dos isômeros todo-trans, 9-cis e 13-cis do β -caroteno. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.22, n. 3, p. 224-228, 2002.

MACHADO, E. R.; MARMESAT, S.; DOBARGANES, M. C.; ABRANTES, S.: Avaliação quantitativa de monoepoxiácidos, monocetoácidos e monohidroxiácidos em óleos e gorduras provenientes de fritura descontínua de batatas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas**, vol. 28, n. 3, p. 675-682, 2008

MAI HC, TRUONG V, DEBASTE F. Optimization of enzyme-aided extraction of oil rich in carotenoids from gac fruit (*Momordica cochinchinensis* Spreng.). **Food Technol Biotechnol**. 2013; 51(4):488-499.

MALASIAN PALM OIL COUNCIL –MPOC – Basic Background Information about Palm Oil, Malasian-1991. Disponível em <http://mpoc.mls> . Acesso em: 15 de agosto de 2015

MALDONADE, I. R. **ProEducação de carotenoides por leveduras**. Dissertação de Doutorado- Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas- São Paulo, 2003

MAPA. Anuário Estatístico da Agroenergia - 2010. Brasília: **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento** – Brasil, 2011. 160p. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Desenvolvimento_Sustentavel/Agroenergia/anuario_agroenergia/ Acesso em: 03 nov. 2015.

MARTOS, M.A. *et al.*, Production of pectinolytic enzymes by the yeast *Wickerhamomyces anomalus* isolated from citrus fruits peels. **Biotechnology Research International**, v. 2013, p.435154, 2013

MATTHÄUS, B. Use of palm oil for frying in comparison with other high-stability oils. **European Journal of Lipids Science and Technology**, Weinheim, vol.109, p. 400-409, 2007.

MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A. J.; VICARIO, I. M.; HEREDIA, F. J. Importância nutricional de los pigmentos carotenoides. **Archivos Latinoamericano de Nutrición**, Caracas, v. 54, n. 2, p. 149-155, 2004. Disponível em: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S0004-06222004000200003&script=sci_arttext Acesso em: 03 nov. 2015.

MELO, W.S., Avaliação Tecnológica da Potencialidade do Fruto Buriti (*Mauritia flexuosa*). Dissertação de mestrado Universidade Federal do Pará. 2008.

MONTEIRO K.F.G., HOMMA A.K.O. Diferentes sistemas de produção com palma de óleo (*Elaeis guineensis* Jacq.) e a participação do Brasil no cenário internacional. **Obs la Econ Latinoam.** (200), 2014.

MILLER, G. L. “Use of dinitrosalicylle acid for determination of reducing sugar”, *Anal. Chem.* 11, 426-428, 1959.

MOREIRA NX, ANASTÁCIO A, MAFRA D, GRAU A, RAMOS P. Compostos fenólicos: possíveis aplicações na doença renal crônica. 2013. Disponível em: <http://www.revistanutrire.org.br/doi/10.4322/nutrire.2013.029> Acesso em:24 nov. 2015

MURPHY, D. J. **Plant Lipids: Biology, Utilisation and Manipulation.** 1st Ed., 2005; Blackwell Publishing.

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

NASCIMENTO, L. D.1; SILVA, P1; MORAIS, J. P. S.2; TAVARES, E. J. S. Análise centesimal da fibra da prensagem do mesocarpo do dendê. **IV Encontro de Produção Científica da Embrapa Algodão - EPC 2009. Embrapa. 2009.**

NATTAPORN S, PORJAI T. Recovery of used frying palm oil by acidified ash from rice husk. **Journal of Food Science and Agricultural Technology.** 1:193-196, 2015.

NEO Y-P, ARIFFIN A, TAN C-P, TAN Y-A. Phenolic acid analysis and antioxidant activity assessment of oil palm (*E. guineensis*) fruit extracts. **Food Chem.** 122(1):353-359, 2010.

NOLDIN, V.F.; MONACHE, F.D. e YUNES, R.A. Composição química e atividade biológica de *Cynara scolymus* L. cultivada no Brasil. **Química Nova**, v.26, n.3, p.331-334, 2003.

O'BRIEN, R.D. *Fats and Oils: Formulating and Processing for Applications*, 2 ed., **New York: CRC Press**, 2004.

OGAN MBA, DUMONT M-J, NGADI M. Palm oil: Processing, characterization and utilization in the food industry – A review. **Food Biosci.** 10(JANUARY):26-41, 2015.

OGEDA TL., PETRE D.F.S. Hidrólise Enzimática De Biomassa. **Quim. Nova**, vol. 33(7):1549-1558, 2010.

OLIVEIRA, J. T. G. *Melhor Dosagem e Dose Econômica de TBHQ nos Óleos de Milho e Canola. Tese.* Piracicaba, 2003. 75p. Mestrado (engenharia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo (ESALQ/USP).

OLSSON L. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates for ethanol production. 0229(95):312-331, 1996.

OOI, C. K., CHOO, Y. M., YAP, S. C., BASIRON, Y., & ONG, A. S. Recovery of carotenoids from palm oil. **Journal of American Oil Chemists' Society**, 71(4), 423-426, 1994.

ORGAN M.B.A., DUMONT M-J, NGADI M. Palm oil: Processing, characterization and utilization in the food industry – A review. **Food Biosci.** 10(JANUARY):26-41, 2015.

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

PEIXOTO, C. A. Recuperação de tocoferóis do destilado da desodorização do óleo de palma, Fracionamento com dióxido de carbono supercrítico. Campinas,SP [s.n.].
Dissertação de mestrado, Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, 2004.

PESCHEL, W., SÁNCHEZ-RABANEDA, F., DICKMANN, W., PLESEHEN, A.,
GARTIZA, I., JIMÉNEZ, D., LAMUELA-RAVENTOS, R., BUXADERAS, S.,
CODINA, C, An Industrial approach in the search of natural antioxidants from vegetables and fruit wastes. **Food Chemistry** 137-150, 2006.

PORTELA, H. E. Avaliação técnico-econômica de um empreendimento produtivo de biodiesel. 2007. 208f. **Dissertação** (Mestrado em Gerenciamento e Tecnologias Ambientais no Processo Produtivo), Universidade Federal da Bahia. Salvador-BA.

PORRINI, M.; RISO, P. Lymphocyte lycopene concentration and DNA protection from oxidative damage is increased in women after a short period of tomato consumption. **Journal Nutri.**, v. 130, n.2, p.189-192, 2000.

RAMALHO FILHO A, MOTTA PEF DA, FREITAS PL, TEIXEIRA WG. Zoneamento Agroecológico, Produção E Manejo Para a Cultura Da Palma de Óleo Na Amazônia. **EMBRAPA Solos**, Rio de Janeiro-RJ; 2010.

RAO, M.B. Molecular and biotechnological aspects of microbial proteases. **Microbiology and Molecular Biology Review**. New York, v.62, n. 3, p. 597-635, 1998.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. Biology of plants. New York: Worth Publ., 2001. 791 p.

REDA, S.Y.; CARNEIRO, P.I.B.: Óleos e gorduras: aplicações e implicações. **Revista Analytica**, São Paulo, n.27, p. 60-67, 2007.

RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G. **Química de Alimentos**. 1ª edição, Instituto Mauá de Tecnologia, Editora: Edgard Blücher Ltda, São Paulo, p. 155-157, 2004.

RIBEIRO BD. Aplicação de Tecnologia Enzimática na Obtenção de β -Caroteno a partir de Óleo de Buriti (*Mauritia vinifera*). 2008:119.

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 Bioprocess**. 90(2):141-147, 2012.

RODRIGUES, A.M.C; DARNET, S.H; SILVA, L.H. Fatty Acid Profiles and Tocopherol Contents of Buriti (*Mauritia flexuosa*), Patawa (*Oenocarpus bataua*), Tucuma (*Astrocayum vulgare*), Mari (*Poraqueiba paraensis*) and Inaja (*Maximiliana maripi*) Fruits. **Journal of Brazilian Chemical Society** (impresso), v. 21, p.2000-2004, (2010)

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; AMAYA-FARFAN, J. Estado actual de los métodos analíticos para determinar pró-vitamina A. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 44, n. 1, p. 180-199, 1992.

RODRIGUEZ-AMAYA, D.B.: Assesment of Provitamin A contents of food – the Brazilian experience. **Journal of food composition and analysis**, n. 9, p. 196 – 230, 1996

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **A guide to carotenoid analysis in food**. ILSI Press, Washington, p.37-51, 1999.

RODRÍGUEZ-AMAYA. A guide to carotenoide analysis in foods. Estados Unidos de América: **OMNI**, 2001.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; KIMURA, M.; AMAYA-FARFAN, J. Fontes brasileiras de carotenoides – **Tabela brasileira de composição de carotenoides em alimentos**, Ministério do Meio Ambiente, 2008.

ROSENTHAL, A.; PYLE, D.L.; NIRANJAN, K.; GILMOUR, S.; TRINCA, L. Combined effect of operational variables and enzyme activity on aqueous enzymatic extraction of oil and protein from soybean. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 28, n. 6, p. 499-509, 2001.

RUFINO, M.S.M; ALVES, R.E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S.M.; SAMPAIO, C.G.; PEREZ-JIMENEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. **Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas Pela Captura do Radical**

Livre ABTS. Embrapa Agroindústria Tropical: Comunicado Técnico 127. Fortaleza-CE, p. 4, 2007.

RUIZ P.R., ROMERO C.E., HERNÁNDEZ V.H., SALINAS G. I. Evaluación del fruto entero de palma de aceite ofrecido ad libitum en la alimentación de pollos de engorde. **Revista Citecsa**, 5(9), 2015.

SAAD, B.; LING, C. W.; Jab, M. S.; LIM, B. P.; ALI, A. S. M.; WAI, W. T. Determination of free fatty acids in palm oil samples using non-aqueous flow injection titrimetric method. *Food Chemistry*, vol. 102, pp. 1407 – 1414, 2006.

SAJILATA MG, SINGHAL RS, KAMAT MY. The carotenoid pigment Zeaxanthin—A Review. 2008; 7:29-49.

SAMBANTHAMURTHI, R.; SUDRAM, K.; TAN, Y.: Chemistry and biochemistry of palm oil. **Progress in Lipid Research**, n. 39, p. 507-558, 2000.

SAMPAIO K A., CERIANI R, SILVA SM, TAHAM T, MEIRELLES A. J A. Steam deacidification of palm oil. **Food Bioprod Process**. 89(4):383-390, 2011.

SANCHEZ, C., A Parede Celular Vegetal E As Enzimas Envolvidas Na Sua Degradação. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**. Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/919344/1/DOC542011.pdf> Acesso em: 03 nov. 2015.

SANTI L., Berger M. & BEYS W.O. Pectinases E Pectina: Aplicação Comercial E Potencial Biotecnológico. **Cad pedagógico**. 2014:130-139.

SANTOS RD, FERRARI RA. Extração aquosa enzimática de óleo de soja. **Ciência e Tecnol Aliment**. 2005; 25(1): 132-138.

SARQUIS M., OLIVEIRA E., SANTOS A., COSTA GL. Production of L-asparaginase by filamentous fungi. **Mem Inst Oswaldo Cruz**. 99(5):489-492, 2004.

SEMMA, M. Trans Fatty Acids: Properties, Benefits and Risks. *J. Health Sci*. 2002;48: 7-13.

SHAH S, SHARMA A, GUPTA MN. Extraction of oil from *Jatropha curcas* L. seed kernels by enzyme assisted three phase partitioning. **Ind Crops Prod**; 20(3):275-279, 2004.

SHAMI, N. J. I. E.; MOREIRA, E. A. M. Licopeno como agente antioxidante. **Revista Nutrição**, Campinas, v. 17, n. 2, p. 227-236, 2004.

SHANKAR, D.; AGRAWAL, Y.C.; SARKAR, B.C.; SINEH, B.P.N. Enzymatic hydrolysis in conjunction with conventional pretreatments to soybean for enhanced oil availability and recovery. **Journal of American Oil Chemical Society**, v. 74, n. 12, p. 1543-1547, 1997.

SHARMIN E, ZAFAR F, AKRAM D, ALAM M. Recent advances in vegetable oils based environment friendly coatings : A review. **Ind Crop Prod**. 76:215-229, 2015.

SIGMA-ALDRICH. Disponível em: < <http://www.sigmaaldrich.com> >. Acesso em: 26 de nov. 2015

SILVA, T. O., & PEREIRA, P. A. Influence of time, surface to volume ratio, and heating process (continuous or intermittent) on the emission rates of selected carbonyl compounds during thermal oxidation of palm and soybean oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** (56), 3129-3135, 2008.

SINGLETON V L & ROSSI J A. JR. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdc-phosphotungstic acid reagents. *Amer. J. Enol. Viticult.* 16:144-58, 1965.

SOTO, C.; CHAMY, R.; ZÚNIGA, M.E. Enzymatic hidrolisis and pressing conditions effect on borage oil extraction by cold pressing. **Food Chemistry**, v.102, p.834-840, 2006.

SOUZA, M. P. Germinação in vitro, indução e caracterização de massas pró-embriogênicas de dendezeiro (*Elaeis guineensis* Jacq.). 2012. 120f. **Dissertação** (Mestrado em Biotecnologia Vegetal), Universidade Federal de Lavras. Lavras-MG.

STAHL, W.; ALE-AGHA, N.; POLIDORI, M. C. Non-antioxidant properties of carotenoids. **Biological Chemistry**, v. 383, p. 553-558, 2002.

STATSOFT, INC. (2004). STATISTICA (data analysis software system), version 7. www.statsoft.com.

SUBRAMANIAN, R., NABETANI, H., NAKAJIMA, M., ICHIKAWA, S., KIMURA, T., & MAEKAWA, T. Rejection of carotenoids in oil systems by a nonporous polymeric composite membrane. **Journal of American Oil Chemists' Society**, 78(8), 803-807, 2001.

SUNILKUMAR K, BABU DSS. Surface color based prediction of oil content in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq .) fresh fruit bunch. **African Journal of Agricultural Research**. 8(6):564-569, 2013.

SZYDŁOWSKA-CZERNIAK A, TROKOWSKI K, KARLOVITS G, SZŁYK E. Effect of refining processes on antioxidant capacity, total contents of phenolics and carotenoids in palm oils. *Food Chem*. 129(3):1187-1192, 2011.

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

TEIXEIRA, C. B. Estudo comparativo dos efeitos do pré tratamento térmico ou enzimático para extração aquosa e propriedades do óleo de palma (*Elaeis guineensis*). Dissertação de Mestrado, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Feral do Pará. 2011

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

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

VAN POPPEL, G.; GOLDBOHN, R. A. Epidemiologic evidence for β -carotene and cancer prevention. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 62, p. 1393S-1402S, 1995.

VIEIRA AP, NICOLETI JF. Liofilização de fatias de abacaxi: avaliação da cinética de secagem e da qualidade do produto. **Brazilian journal food Technol.** 15(1):50-58, 2012.

VILLELA, G. G. **Pigmentos animais: Zoocromos.** Editora: Academia Brasileira de Ciências, p. 5-31, 1976

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

WATTANAPENPAIBOON, N.; WAHLQVIST, M.L.: Phytonutrient deficiency: the place of palm fruit. **Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition**, China, vol. 3, n. 12, p. 363-368, 2003

YOU, L. L., BAHARIN, B. S., QUEK, S. Y., ABDULLAH, M. A., & TAKAGI, S. Recovery of palm carotene from palm oil and hydrolyzed palm oil by adsorption column chromatography. **Journal of Food Lipids**, 87-93, 2002.

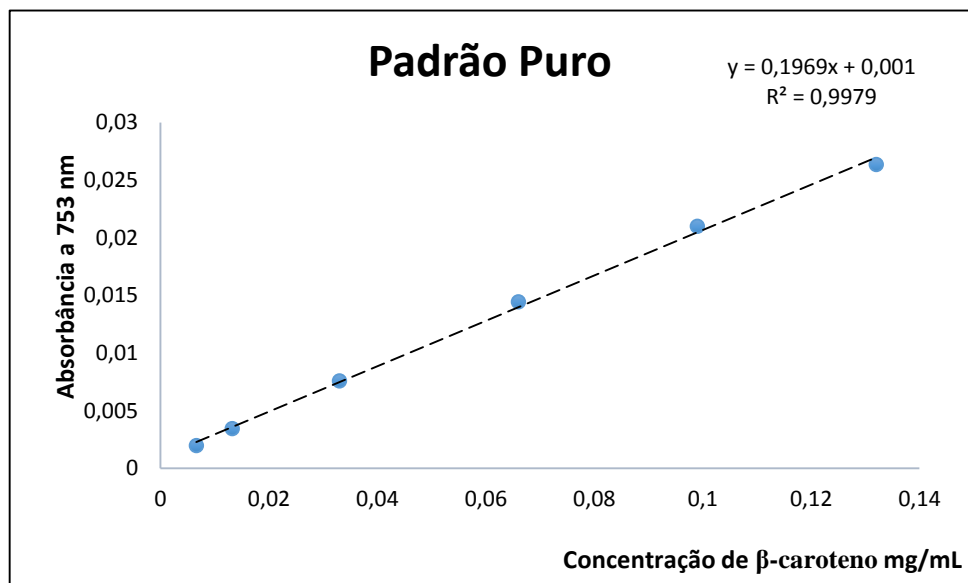
YOUNG, A. J.; LOWE, G. M. Antioxidant and prooxidant properties of carotenoids. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 385, n. 1, p- 20-27, 2001.

ZOU, Y., JIANG, Y., YANG, T., HU, P., & XU, X. Minor constituents of palm oil: Characterization, processing, and application. In O. -M. Lai, C.-P. Tan, & C. C. Akoh (Eds.), *Palm oil: Production, processing, characterization and uses* (pp. 471–524). Urbana, Illinois, USA: AOCS Press. 2012.

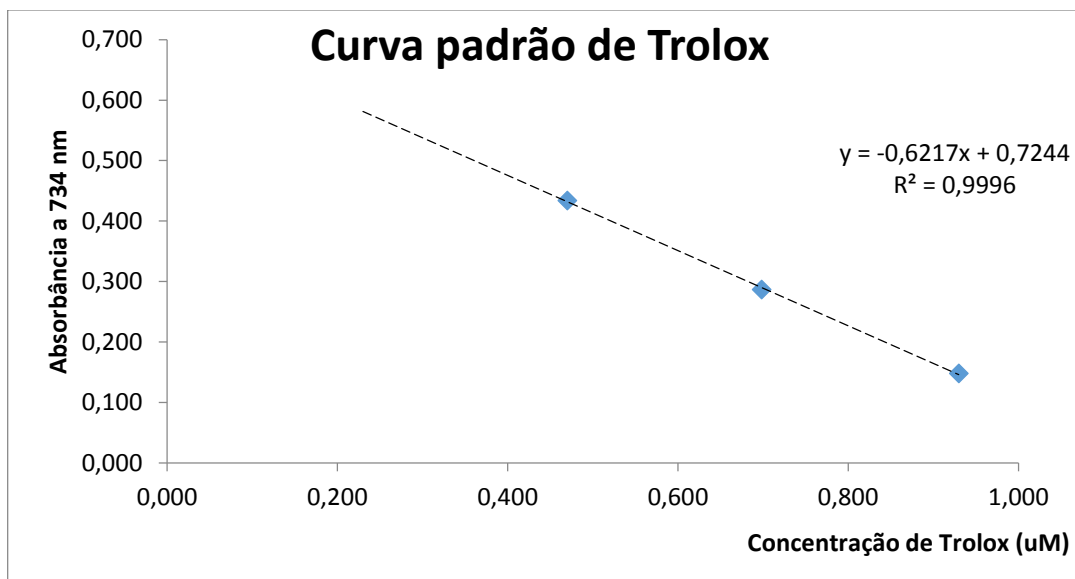
ZUNIGA ADG, PAULA MM, Coimbra Jane Selia dos Reis, Martins ECA, Silva DDX, Telis-romero J. Revisão: Propriedades Físico-Químicas Do Biodiesel. **Pestic Rev Ecotoxicologia e Meio Ambient.** 21:55-72, 2011.

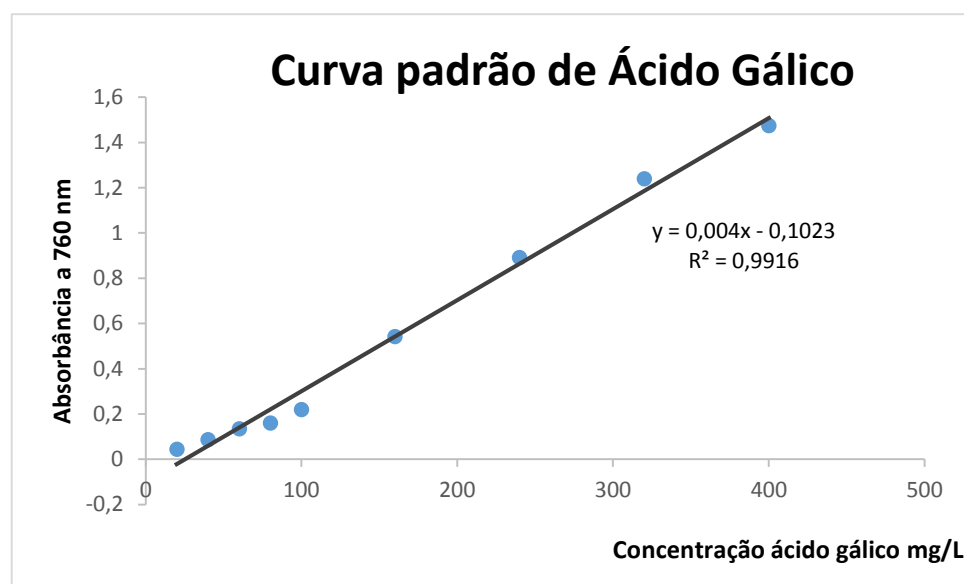
7. APÊNDICE

Apêndice 1: Curva padrão do β -caroteno.



Apêndice 2: Curva padrão de Trolox.



Apêndice 3: Curva padrão de Ácido gálico.**Apêndice 4:** Efeito estimado, erro, coeficiente t e grau de significância estatística para o rendimento do óleo calculado pelo erro puro.

Variáveis	Efeito estimado	Erro	t	Significância estatística (p)
Celulase DP				
Temperatura (L)*	3,473	0,125	27,751	0,001
Temperatura (Q)*	5,922	0,138	42,947	0,001
Conc. enzimática (L)*	11,284	0,125	90,159	0,000
Com. enzimática (Q)*	-1,110	0,138	-8,048	0,015
Tempo (L)*	1,288	0,125	10,291	0,009
Tempo (Q)*	4,852	0,138	35,187	0,001
1 com 2*	3,341	0,163	20,442	0,002
1 com 3	0,226	0,163	1,384	0,301
2 com 3*	-1,659	0,163	-10,148	0,010
Pectinase DP				
Temperatura (L)*	6,802	0,247	27,519	0,001
Temperatura (Q)*	11,901	0,272	43,702	0,001
Conc. enzimática (L)*	22,421	0,247	90,705	0,000
Conc. enzimática (Q)*	-2,165	0,272	-7,950	0,015
Tempo (L)*	2,421	0,247	9,794	0,010
Tempo (Q)*	9,761	0,272	35,843	0,001
1 com 2*	6,932	0,323	21,474	0,002
1 com 3	0,703	0,323	2,176	0,162
2 com 3*	-3,078	0,323	-9,533	0,011

Variáveis	Efeito estimado	Erro	t	Significância estatística (p)
Alcalase DP				
Temperatura (L)	2,151	0,932	2,307	0,147
Temperatura (Q)*	12,410	1,026	12,085	0,006
Conc. enzimática (L)*	5,812	0,932	6,236	0,024
Conc. enzimática (Q)*	-9,334	1,026	-9,090	0,011
Tempo (L)*	4,497	0,932	4,824	0,040
Tempo (Q)	-4,066	1,026	-3,959	0,058
1 com 2	4,470	1,217	3,672	0,066
1 com 3	1,660	1,217	1,364	0,305
2 com 3	0,885	1,217	0,727	0,542
Celulase DSP				
Temperatura (L)*	6,509	0,247	26,333	0,001
Temperatura (Q)*	12,011	0,272	44,107	0,000
Conc. enzimática (L)*	22,125	0,247	89,507	0,000
Conc. enzimática (Q)*	-2,054	0,272	-7,545	0,017
Tempo (L)*	2,130	0,247	8,620	0,013
Tempo (Q)*	9,871	0,272	36,249	0,000
1 com 2*	7,432	0,322	23,023	0,001
1 com 3	1,202	0,322	3,725	0,065
2 com 3*	-2,572	0,322	-7,969	0,015
Pectinase DSP				
Temperatura (L)*	6,564	0,310	21,207	0,002
Temperatura (Q)*	12,060	0,341	35,367	0,001
Conc. enzimática (L)*	22,175	0,310	71,642	0,000
Conc. enzimática (Q)*	-2,038	0,341	-5,977	0,027
Tempo (L)*	2,270	0,310	7,335	0,018
Tempo (Q)*	9,831	0,341	28,832	0,001
1 com 2*	7,370	0,404	18,232	0,003
1 com 3	1,650	0,404	4,082	0,055
2 com 3*	-2,760	0,404	-6,828	0,021
Alcalase DSP				
Temperatura (L)	1,072	0,467	2,294	0,149
Temperatura (Q)*	4,703	0,515	9,133	0,012
Conc. enzimática (L)*	2,960	0,467	6,332	0,024
Conc. enzimática (Q)*	-2,814	0,515	-5,465	0,032
Tempo (L)*	2,234	0,467	4,780	0,041
Tempo (Q)	-0,022	0,515	-0,043	0,970
1 com 2	2,224	0,610	3,643	0,068
1 com 3	0,894	0,610	1,464	0,281
2 com 3	0,524	0,610	0,858	0,481

DP=dendê prensado, DSP=dendê sem prensado.

Apêndice 5: Efeito estimado, erro, coeficiente t e grau de significância estatística para a concentração de carotenoides pelo erro puro.

Variáveis	Efeito estimado	Erro	T	Significância estatística (p)
Celulase DP				
Temperatura (L)*	7,233	0,568	12,733	0,006
Temperatura (Q)*	12,206	0,626	19,503	0,003
Conc. enzimática (L)*	21,949	0,568	38,637	0,001
Conc. enzimática (Q)	-1,226	0,626	-1,959	0,189
Tempo (L)*	2,608	0,568	4,590	0,044
Tempo (Q)*	10,101	0,626	16,140	0,004
1 com 2*	6,785	0,742	9,145	0,012
1 com 3	0,515	0,742	0,694	0,559
2 com 3	-2,825	0,742	-3,808	0,063
Pectinase DP				
Temperatura (L)*	5,476	0,171	31,920	0,001
Temperatura (Q)*	7,062	0,189	37,362	0,000
Conc. enzimática (L)*	13,455	0,171	78,422	0,000
Conc. enzimática (Q)*	-1,444	0,189	-7,643	0,016
Tempo (L)*	2,242	0,171	13,071	0,005
Tempo (Q)*	5,317	0,189	28,130	0,001
1 com 2*	4,440	0,224	19,814	0,002
1 com 3	0,065	0,224	0,290	0,799
2 com 3*	-2,307	0,224	-10,298	0,009
Alcalase DP				
Temperatura (L)	2,379	0,674	3,531	0,071
Temperatura (Q)*	9,520	0,742	12,827	0,006
Conc. enzimática (L)*	6,234	0,674	9,254	0,011
Conc. enzimática (Q)*	-5,454	0,742	-7,348	0,018
Tempo (L)*	4,469	0,674	6,634	0,021
Tempo (Q)	0,495	0,742	0,667	0,573
1 com 2*	4,635	0,880	5,268	0,034
1 com 3	2,040	0,880	2,319	0,146
2 com 3	1,060	0,880	1,205	0,351
Celulase DSP				
Temperatura (L)*	6,895	0,544	12,671	0,006
Temperatura (Q)*	11,503	0,599	19,187	0,003
Conc. enzimática (L)*	21,702	0,544	39,882	0,001
Conc. enzimática (Q)	-2,124	0,599	-3,543	0,071
Tempo (L)*	2,666	0,544	4,900	0,039
Tempo (Q)*	9,267	0,599	15,458	0,004
1 com 2*	7,352	0,711	10,346	0,009
1 com 3	0,407	0,711	0,573	0,624
2 com 3	-2,108	0,711	-2,966	0,097

Variáveis	Efeito estimado	Erro	T	Significância estatística (p)
Pectinase DSP				
Temperatura (L)*	9,744	0,528	18,456	0,003
Temperatura (Q)*	13,676	0,582	23,512	0,002
Conc. enzimática (L)*	26,379	0,528	49,963	0,000
Conc. enzimática (Q)*	-3,119	0,582	-5,362	0,033
Tempo (L)*	4,721	0,528	8,942	0,012
Tempo (Q)*	10,133	0,582	17,421	0,003
1 com 2*	9,578	0,690	13,890	0,005
1 com 3	0,797	0,690	1,157	0,367
2 com 3*	-5,568	0,690	-8,075	0,015
Alcalase DSP				
Temperatura (L)	1,251	0,318	3,932	0,059
Temperatura (Q)*	4,812	0,350	13,730	0,005
Conc. enzimática (L)*	2,988	0,318	9,393	0,011
Conc. enzimática (Q)*	-2,629	0,350	-7,502	0,017
Tempo (L)*	2,284	0,318	7,180	0,018
Tempo (Q)	0,340	0,350	0,971	0,433
1 com 2*	2,147	0,415	5,169	0,035
1 com 3	0,995	0,415	2,395	0,138
2 com 3	0,535	0,415	1,288	0,326

DP=dendê prensado, DSP=dendê sem prensado.

Apêndice 6: Valores preditos dos modelos para o rendimento do óleo.

Ensaio	CDP			CDSP			PDP			PDSP			ADP			ADSP		
	Predito	- 95%	95%	Predito	-95%	95%	Predito	-95%	95%	Predito	-95%	95%	Predito	-95%	95%	Predito	-95%	95%
1	43,18	38,35	48,01	50,19	46,07	54,30	54,84	50,35	59,33	57,24	52,95	61,52	50,69	39,30	62,08	56,63	41,92	71,34
2	42,99	38,17	47,82	48,06	43,95	52,18	54,02	49,53	58,51	54,78	50,50	59,07	46,71	35,32	58,10	52,54	37,83	67,25
3	75,56	70,73	80,39	80,19	76,08	84,31	86,44	81,95	90,93	87,09	82,80	91,37	56,11	44,72	67,50	61,86	47,15	76,57
12	75,27	70,44	80,10	80,95	76,84	85,07	86,46	81,97	90,95	88,25	83,96	92,53	63,15	51,76	74,54	69,16	54,45	83,87
4	48,62	43,79	53,45	53,69	49,57	57,81	59,65	55,16	64,14	60,62	56,33	64,90	52,64	41,25	64,03	58,27	43,56	72,98
6	62,38	57,56	67,21	67,45	63,34	71,57	73,42	68,93	77,91	74,80	70,52	79,09	51,15	39,75	62,54	57,06	42,35	71,77
7	49,34	44,51	54,17	53,97	49,85	58,08	60,21	55,72	64,70	61,46	57,18	65,75	51,98	40,59	63,37	57,75	43,04	72,46
8	61,19	56,36	66,02	65,81	61,69	69,93	72,05	67,56	76,54	72,66	68,38	76,95	54,87	43,48	66,26	60,78	46,07	75,50
9	63,51	58,78	68,25	68,35	64,31	72,38	74,44	70,04	78,85	75,47	71,26	79,67	51,95	40,77	63,12	53,52	39,09	67,95
10	25,56	20,83	30,30	31,14	27,10	35,18	36,75	32,35	41,16	38,18	33,98	42,38	69,61	58,44	80,79	61,03	46,60	75,46
11	59,18	54,45	63,92	64,77	60,73	68,80	70,38	65,98	74,79	71,65	67,45	75,85	73,23	62,05	84,40	44,42	29,99	58,85
12	63,48	58,74	68,21	68,31	64,27	72,35	74,41	70,01	78,82	75,43	71,23	79,64	45,62	34,44	56,79	54,37	39,94	68,80
13	58,53	53,80	63,27	64,11	60,07	68,15	69,72	65,32	74,13	71,19	66,99	75,39	44,39	33,22	55,57	68,81	54,38	83,24
14	70,20	65,47	74,94	75,04	71,00	79,08	81,14	76,74	85,55	82,22	78,01	86,42	35,85	24,68	47,03	72,41	57,98	86,84
15	47,65	43,34	51,96	52,62	48,95	56,30	58,64	54,63	62,65	59,68	55,86	63,51	53,91	43,73	64,08	56,52	42,60	70,45
16	47,65	43,34	51,96	52,62	48,95	56,30	58,64	54,63	62,65	59,68	55,86	63,51	53,91	43,73	64,08	56,52	42,60	70,45
17	47,65	43,34	51,96	52,62	48,95	56,30	58,64	54,63	62,65	59,68	55,86	63,51	53,91	43,73	64,08	56,63	41,92	71,34

CDP = extração com celulase do dendê prensado, CDSP = extração com celulase do dendê sem prensar, PDP = extração com pectinase do dendê prensado, PDSP = extração com pectinase do dendê sem prensar, ADP= extração com alcalase do dendê prensado e ADSP = extração com alcalase do dendê sem prensar

Apêndice 7: Valores preditos dos modelos para a concentração de carotenoides.

Ensaio	CDP			CDSP			PDP			PDSP			ADP			ADSP		
	Predito	-95%	95%	Predito	-95%	95%	Predito	-95%	95%	Predito	-95%	95%	Predito	-95%	95%	Predito	-95%	95%
1	440,84	435,31	446,37	650,16	646,28	654,03	525,26	512,79	521,65	832,42	828,19	836,64	849,69	836,71	862,66	1157,68	1145,08	1170,28
2	440,77	435,24	446,30	649,29	645,41	653,17	525,26	514,74	523,59	831,78	827,56	836,01	845,39	832,41	858,37	1153,90	1141,29	1166,50
3	472,33	466,80	477,86	680,45	676,58	684,33	525,26	555,14	564,00	873,31	869,09	877,53	855,20	842,22	868,18	1163,10	1150,50	1175,70
4	472,63	467,10	478,16	681,42	677,54	685,30	525,26	555,14	564,00	873,26	869,04	877,48	862,77	849,79	875,75	1170,72	1158,12	1183,33
5	445,76	440,23	451,29	654,52	650,65	658,40	525,26	521,76	530,62	841,91	837,68	846,13	851,06	838,08	864,03	1159,19	1146,59	1171,79
6	458,83	453,30	464,36	666,61	662,74	670,49	525,26	535,44	544,30	854,78	850,56	859,01	850,23	837,25	863,20	1158,29	1145,69	1170,89
7	446,72	441,19	452,25	654,47	650,60	658,35	525,26	523,97	532,83	842,87	838,65	847,09	850,84	837,86	863,82	1159,38	1146,78	1171,98
8	458,10	452,57	463,63	666,76	662,89	670,64	525,26	535,18	544,04	853,14	848,92	857,36	853,71	840,74	866,69	1161,94	1149,34	1174,54
9	460,40	454,98	465,83	668,96	665,15	672,76	525,26	539,69	548,38	858,35	854,21	862,50	854,53	841,80	867,26	1162,80	1150,44	1175,16
10	423,79	418,37	429,21	632,41	628,61	636,21	525,26	494,24	502,93	851,20	847,06	855,34	861,51	848,78	874,24	1169,48	1157,12	1181,84
11	456,02	450,60	461,45	664,48	660,67	668,28	525,26	532,16	540,85	867,57	863,43	871,71	865,51	852,78	878,24	1173,68	1161,32	1186,04
12	460,66	455,24	466,09	668,87	665,07	672,67	525,26	539,45	548,14	857,85	853,70	861,99	847,62	834,89	860,35	1155,60	1143,24	1167,96
13	455,11	449,68	460,53	664,08	660,28	667,88	525,26	531,65	540,34	850,42	846,28	854,56	847,02	834,29	859,75	1155,13	1142,76	1167,49
14	467,26	461,83	472,68	675,66	671,86	679,47	525,26	550,05	558,74	813,53	809,39	817,67	837,15	824,42	849,88	1145,56	1133,20	1157,92
15	443,96	439,02	448,90	653,64	650,18	657,10	525,26	521,31	529,22	840,09	836,32	843,86	850,08	838,49	861,67	1158,00	1146,75	1169,25
16	443,96	439,02	448,90	653,64	650,18	657,10	525,26	521,31	529,22	840,09	836,32	843,86	850,08	838,49	861,67	1158,00	1146,75	1169,25
17	443,96	439,02	448,90	653,64	650,18	657,10	525,26	521,31	529,22	840,09	836,32	843,86	850,08	838,49	861,67	1158,00	1146,75	1169,25

CDP = extração com celulase do dendê prensado, CDSP = extração com celulase do dendê sem prensar, PDP = extração com pectinase do dendê prensado, PDSP = extração com pectinase do dendê sem prensar, ADP= extração com alcalase do dendê prensado e ADSP = extração com alcalase do dendê sem prensar

