



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

**DAYALA ALBUQUERQUE DA SILVA**

**INTERESTERIFICAÇÃO ENZIMÁTICA DE ÓLEO DE PRACAXI, GORDURA DE**  
**CUPUAÇU E ESTEARINA DE PALMA: OBTENÇÃO DE GORDURAS ESPECIAIS**  
**PARA APLICAÇÃO NA INDÚSTRIA ALIMENTÍCIA**

**BELÉM - PA**

**2018**



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

**DAYALA ALBUQUERQUE DA SILVA**

**INTERESTERIFICAÇÃO ENZIMÁTICA DE ÓLEO DE PRACAXI, GORDURA DE**  
**CUPUAÇU E ESTEARINA DE PALMA: OBTENÇÃO DE GORDURAS ESPECIAIS**  
**PARA APLICAÇÃO NA INDÚSTRIA ALIMENTÍCIA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Pará, como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

**ORIENTADORA:**

Profa. Dra. Luiza Helena Meller da Silva.

**BELÉM - PA**

**2018**

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

---

- S586i Silva, Dayala Albuquerque da  
Interesterificação enzimática de óleo de pracaxi, gordura de cupuaçu e estearina de palma: obtenção de gorduras especiais para aplicação na indústria alimentícia / Dayala Albuquerque da Silva. — 2018  
82 f. : il. color
- Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA), Instituto de Tecnologia, Universidade Federal do Pará, Belém, 2018.  
Orientação: Profa. Dra. Luiza Helena Meller da Silva
1. Lipídios estruturados. 2. *Thermomyces lanuginosus*. 3. Matrizes amazônicas. 4. *Pentaclethra macroloba*. 5. *Theobroma grandiflorum*. I. Silva, Luiza Helena Meller da, orient. II. Título
-

**DAYALA ALBUQUERQUE DA SILVA**

**INTERESTERIFICAÇÃO ENZIMÁTICA DE ÓLEO DE PRACAXI, GORDURA DE  
CUPUAÇU E ESTEARINA DE PALMA: OBTENÇÃO DE GORDURAS ESPECIAIS  
PARA APLICAÇÃO NA INDÚSTRIA ALIMENTÍCIA**

**BANCA EXAMINADORA**

---

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

---

**Prof. Dr. Nelson Rosa Ferreira**  
(Membro Titular - PPGCTA/ITEC/UFPA)

---

**Profa. Dra. Suzana Caetano da Silva Lannes**  
(Membro Titular - Departamento de Tec. Bioquímico-Farmacêutica/FCF/USP)

---

**Profa. Dra. Geormenny Rocha dos Santos**  
(Membro Suplente - PPGCTA/ITEC/UFPA)

---

**Profa. Dra. Carolina Vieira Bezerra**  
(Membro Suplente - FANUT/ICS/UFPA)

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo dom da vida.

Aos meus pais, João Prado e Maria Célia, pelo amor, incentivo e apoio. Em especial, à minha mãe, mulher guerreira que sempre me apoiou e incentivou em todos os momentos da minha vida. Por ser meu maior exemplo, pelo seu amor, carinho, dedicação, paciência e força.

Aos meus irmãos, David, Dayla e André, por todo o apoio, compreensão, cuidado e amor. Por acreditarem e torcerem por mim.

À meus familiares que me ajudaram a chegar até aqui.

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

À Profa. Dra. Luiza Helena Meller da Silva, por ser essa orientadora dedicada, comprometida e disponível; e que teve grande contribuição em minha formação profissional.

Ao Prof. Dr. Antonio Manoel da Cruz Rodrigues por suas contribuições durante a realização deste trabalho.

À Capes, pela concessão da bolsa de mestrado.

À banca examinadora pelas inúmeras correções e valiosas contribuições.

À Novozymes Latin America Ltda por ceder a enzima utilizada neste trabalho.

À Agropalma pelo fornecimento da estearina de palma.

À minha amiga e irmã que Deus colocou em meu caminho, Lauana Pantoja. Muito obrigada por sua amizade durante todos esses anos, pelas inúmeras vezes que já me ajudou, por contribuir diretamente para a realização deste trabalho e por ser essa pessoa maravilhosa.

À todos os amigos de laboratório e do PPGCTA. Mas em especial, à Rafaela, Juliana, Júnior, Danilo, Carolina, Robson, Wasley, Werbeth, Paulo, Rebeca, Mayra, Esdras, Carina, Giselle, Aline, Márcio, Hayana, Jézica, Larissia, Samíria e Wanessa pela companhia, auxílio durante a execução do trabalho e momentos de descontração.

Enfim, a todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a minha formação e para a realização deste trabalho.

## RESUMO

Os métodos de modificação de óleos e gorduras são largamente aplicados na indústria alimentícia para a obtenção de produtos com características específicas. Entre estes, destaca-se a mistura e a interesterificação, através dos quais são obtidos os lipídios estruturados. A partir da reação de interesterificação enzimática, catalisada por lipases, podem ser obtidos lipídios com maior controle da distribuição dos ácidos graxos do que os obtidos por via química. E ainda, emprega condições reacionais mais brandas que interferem positivamente na qualidade dos lipídios obtidos. No entanto, apesar de já existirem diversos trabalhos sobre a obtenção de bases lipídicas para aplicação na indústria de alimentos através da interesterificação enzimática, são escassos estudos aplicando as matrizes oleaginosas da região amazônica. Deste modo, este trabalho teve como objetivo obter gorduras especiais para aplicação na indústria alimentícia através dos processos de mistura e interesterificação enzimática de bases lipídicas formadas por matrizes da região amazônica (óleo de pracaxi, gordura de cupuaçu e estearina de palma). As misturas binárias entre o óleo e as gorduras foram desenvolvidas nas proporções (m/m) 40:60, 50:50, 60:40 e 70:30. A enzima utilizada foi a Lipozyme TL IM (*Thermomyces lanuginosus*). As reações foram realizadas nas seguintes condições: a 60 °C, 5 % (m/m) de enzima, agitação de 150 rpm e tempo de reação de 5 horas. As amostras puras e as misturas foram caracterizadas físico-quimicamente quanto ao teor de acidez, peróxido, ponto de fusão, índice de iodo, índice de saponificação, composição em ácidos graxos, composição em triacilgliceróis, estabilidade oxidativa, conteúdo de gordura sólida e consistência. Para avaliação da qualidade nutricional das bases lipídicas foram calculados os índices de qualidade nutricional (IA, IT e HH). Foram obtidas misturas com mais de 50 % de ácidos graxos insaturados. A adição de óleo de pracaxi às misturas melhorou os índices de qualidade nutricional. A interesterificação enzimática provocou o aumento do ponto de fusão para misturas PC e a redução para as PE. O mesmo comportamento foi observado para o conteúdo de gordura sólida. As misturas obtidas mostraram-se adequadas para aplicação em produtos gordurosos como margarinas, *shortenings*, gorduras para panificação/confeitaria e fritura.

**Palavras-chave:** lipídios estruturados, *Thermomyces lanuginosus*, matrizes amazônicas, *Pentaclethra macroloba*, *Theobroma grandiflorum*.

## ABSTRACT

The methods of modification of oils and fats are widely applied in the food industry to obtain products with specific characteristics. Among these, the blending and interesterification stand out, through which the structured lipids are obtained. From the enzymatic interesterification, lipids can be obtained with greater control of the distribution of fatty acids than those obtained chemically. And it employs softer reaction conditions that interfere positively with the quality of the lipids obtained. However, although there are already several studies on obtaining lipid bases for application in the food industry through enzymatic interesterification, there are few studies applying as oilseeds of the amazon region. Thus, this study aimed to obtain special fats for application in the food industry through the blending and enzymatic interesterification of fats of amazon region (pracaxi oil, cupuassu fat and palm stearin). The binary blends between the oil and the fats were developed in ratios (w/w) 40:60, 50:50, 60:40 and 70:30. The Lipozyme TL IM (*Thermomyces lanuginosus*) was used. The reactions were carried out under the following conditions: at 60 °C, 5% (w/w) of enzyme, agitation of 150 rpm and reaction time of 5 h. The pure samples and the blends were evaluated regarding of acidity, peroxide, melting point, iodine value, saponification value, fatty acid composition, triacylglycerol composition, oxidative stability, solid fat content and consistency. The samples' nutritional quality was determined using the nutritional quality indexes (AI, TI and HH). Blends with more than 50 % of unsaturated fatty acids were obtained. The addition of pracaxi oil in the blends improved the nutritional quality indexes. The enzymatic interesterification caused the increase of the melting point for PC blends and the reduction for the PE blends. The same behavior was observed for the solid fat content. The blends obtained were suitable for use in fatty products, in special in the margarines, shortenings, bakery/confectionery fats and fat for frying.

**Keywords:** structured lipids, *Thermomyces lanuginosus*, Amazonian matrices, *Pentaclethra macroloba*, *Theobroma grandiflorum*.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Estrutura da molécula de um triacilglicerol.....	17
<b>Figura 2</b> - Sementes de pracaxi.....	18
<b>Figura 3</b> - Fruto do cupuaçu.....	20
<b>Figura 4</b> - Fruto da palma.....	21
<b>Figura 5</b> - Tipos de reações de reestruturação de acil mediadas por lipases em meio microaquoso, (A) Acidólise, (B) transesterificação, (C) alcoólise, (D) interesterificação e (E) esterificação.....	26
<b>Figura 6</b> - Reação catalisada por lipase específica pela posição do ácido graxo no triacilglicerol.....	28
<b>Figura 7</b> - Reação catalisada por lipase específica pelo substrato.....	29
<b>Figura 8</b> - Reação catalisada por lipase estereoespecífica.....	29
<b>Figura 9</b> - Reação catalisada por lipase não específica.....	29
<b>Figura 10</b> - Mudanças nos pontos de fusão com relação à proporção de gordura de cupuaçu das misturas binárias antes (NIE) e após (IE) a interesterificação enzimática.....	44
<b>Figura 11</b> - Mudanças nos pontos de fusão com relação à proporção de estearina de palma das misturas binárias antes (NIE) e após (IE) a interesterificação enzimática.....	44
<b>Figura 12</b> - Conteúdo de gordura sólida das misturas de óleo de pracaxi e gordura de cupuaçu antes e após a interesterificação enzimática.....	57
<b>Figura 13</b> - Conteúdo de gordura sólida das misturas de óleo de pracaxi e estearina de palma antes e após a interesterificação enzimática.....	57
<b>Figura 14</b> - Conteúdo de gordura sólida das misturas pracaxi:cupuaçu antes da interesterificação enzimática em função da temperatura comparado ao perfil de alguns tipos de margarinas (GUNSTONE; HARWOOD; DIJKSTRA, 2007).....	58
<b>Figura 15</b> - Conteúdo de gordura sólida das misturas pracaxi:cupuaçu após a interesterificação enzimática em função da temperatura comparado ao perfil de alguns tipos de margarinas (GUNSTONE; HARWOOD; DIJKSTRA, 2007).....	58
<b>Figura 16</b> - Conteúdo de gordura sólida das misturas pracaxi:estearina antes da interesterificação enzimática em função da temperatura comparado ao perfil de alguns tipos de margarinas (GUNSTONE; HARWOOD; DIJKSTRA, 2007).....	59

<b>Figura 17</b> - Conteúdo de gordura sólida das misturas pracaxi:estearina após a interesterificação enzimática em função da temperatura comparado ao perfil de alguns tipos de margarinas (GUNSTONE; HARWOOD; DIJKSTRA, 2007).....	59
<b>Figura 18</b> - Conteúdo de gordura sólida das misturas pracaxi:cupuaçu antes da interesterificação enzimática em função da temperatura comparado ao perfil de sólidos de algumas gorduras comerciais: (A) aspensão em biscoitos; (B) uso geral (biscoitos, pães e bolos); (C) frituras (GRIMALDI; GONÇALVES; ESTEVES, 2000).....	60
<b>Figura 19</b> - Conteúdo de gordura sólida das misturas pracaxi:cupuaçu após a interesterificação enzimática em função da temperatura comparado ao perfil de sólidos de algumas gorduras comerciais: (A) aspensão em biscoitos; (B) uso geral (biscoitos, pães e bolos); (C) frituras (GRIMALDI; GONÇALVES; ESTEVES, 2000).....	60
<b>Figura 20</b> - Conteúdo de gordura sólida das misturas pracaxi:estearina antes da interesterificação enzimática em função da temperatura comparado ao perfil de sólidos de algumas gorduras comerciais: (A) aspensão em biscoitos; (B) uso geral (biscoitos, pães e bolos); (C) frituras (GRIMALDI; GONÇALVES; ESTEVES, 2000).....	61
<b>Figura 21</b> - Conteúdo de gordura sólida das misturas pracaxi:estearina após a interesterificação enzimática em função da temperatura comparado ao perfil de sólidos de algumas gorduras comerciais: (A) aspensão em biscoitos; (B) uso geral (biscoitos, pães e bolos); (C) frituras (GRIMALDI; GONÇALVES; ESTEVES, 2000).....	61

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Composição em ácidos graxos do óleo de pracaxi.....	19
<b>Tabela 2</b> - Composição em ácidos graxos da gordura de cupuaçu.....	20
<b>Tabela 3</b> - Composição em ácidos graxos da estearina de palma.....	22
<b>Tabela 4</b> - Composição das misturas binárias.....	31
<b>Tabela 5</b> - Índice de acidez, índice de peróxido, período de indução (PI) a 130 °C e ponto de fusão das amostras puras e das misturas antes e após a interesterificação enzimática.	39
<b>Tabela 6</b> - Composição em ácidos graxos (%) das amostras puras e de suas misturas em diferentes proporções.....	48
<b>Tabela 7</b> - Índices de qualidade nutricional do óleo de pracaxi, gordura de cupuaçu, estearina de palma e de suas misturas em diferentes proporções.....	50
<b>Tabela 8</b> - Composição em triacilgliceróis das amostras puras e das misturas não interesterificadas.....	50
<b>Tabela 9</b> - Composição em triacilgliceróis das amostras puras e das misturas não interesterificadas.....	52
<b>Tabela 10</b> - Composição em triacilgliceróis das amostras puras e das misturas não interesterificadas.....	53
<b>Tabela 11</b> - Conteúdo de gordura sólida das amostras puras e de suas misturas.....	62
<b>Tabela 12</b> - Consistência a 5 °C e 10 °C das misturas antes e após a interesterificação enzimática.....	63

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGL	Ácido graxo livre
AGMI	Ácido graxo monoinsaturado
ANOVA	Análise de variância
AOCS	American Oil Chemists' Society
$a_w$	Atividade de água
Be	Ácido beênico
CGS	Conteúdo de gordura sólida
CUP	Gordura de cupuaçu
EST	Estearina de palma
HH	Razão entre os ácidos graxos hipocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos
IA	Índice de aterogenicidade
IE	Interesterificado enzimaticamente
III	Triinsaturados
IT	Índice de trombogenicidade
L	Ácido linoleico
La	Ácido láurico
LDL	<i>Low Density Lipoprotein</i> (lipoproteína de baixa densidade)
Ln	Ácido linolênico
M	Ácido mirístico
NIE	Não interesterificado
O	Ácido oleico
P	Ácido palmítico
PC	Pracaxi/cupuaçu
PE	Pracaxi/estearina
pH	Potencial hidrogeniônico
PI	Período de indução
PRA	Óleo de pracaxi
RMN	Ressonância magnética nuclear
SII	Monossaturados diinsaturados
SSI	Dissaturados monoinsaturados
SSS	Trissaturados

St	Ácido esteárico
TAG	Triacilglicerol

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>14</b>
<b>2 OBJETIVOS.....</b>	<b>16</b>
2.1 OBJETIVO GERAL.....	16
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	16
<b>3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>17</b>
3.1 ÓLEOS E GORDURAS VEGETAIS.....	17
<b>3.1.1 Óleos e gorduras da Amazônia.....</b>	<b>17</b>
3.1.1.1 Óleo de pracaxi.....	18
3.1.1.2 Gordura de cupuaçu.....	19
3.1.1.3 Estearina de palma.....	20
3.2 MODIFICAÇÃO DE ÓLEO E GORDURAS.....	22
<b>3.2.1 Mistura, hidrogenação, fracionamento e interesterificação.....</b>	<b>22</b>
<b>3.2.2 Interesterificação enzimática.....</b>	<b>25</b>
3.2.1.1 Lipases.....	25
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>30</b>
4.1 MATÉRIA-PRIMA.....	30
4.2 ENZIMA.....	30
4.3 MÉTODOS.....	30
<b>4.3.1 Preparo das misturas binárias.....</b>	<b>30</b>
<b>4.3.2 Atividade da lipase.....</b>	<b>31</b>
<b>4.3.3 Interesterificação enzimática.....</b>	<b>32</b>
4.3.3.1 Remoção dos ácidos graxos livres.....	32
4.3.3.2 Recuperação da enzima.....	33
<b>4.3.4 Caracterização físico-química.....</b>	<b>33</b>
4.3.4.1 Índice de acidez.....	33
4.3.4.2 Índice de peróxido.....	33
4.3.4.3 Ponto de fusão.....	33
4.3.4.4 Perfil de ácidos graxos.....	34
4.3.4.5 Índice de iodo.....	34
4.3.4.6 Índice de saponificação.....	34
4.3.4.7 Determinação da qualidade nutricional.....	34

4.3.4.7.1 Índices de aterogenicidade e trombogenicidade.....	35
4.3.4.7.2 Razão entre os ácidos graxos hipocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos...	35
4.3.4.8 Composição em triacilgliceróis.....	35
4.3.4.9 Estabilidade oxidativa.....	36
4.3.4.10 Conteúdo de gordura sólida.....	36
4.3.4.11 Consistência.....	36
<b>4.3.5 Análise estatística.....</b>	<b>37</b>
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>38</b>
5.1 ATIVIDADE DA LIPASE.....	38
5.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA.....	38
5.2.1 Índice de acidez.....	38
5.2.2 Índice de peróxido.....	40
5.2.3 Estabilidade oxidativa.....	41
5.2.4 Ponto de fusão.....	42
5.2.5 Perfil de ácidos graxos.....	45
5.2.6 Determinação da qualidade nutricional.....	49
5.2.7 Composição em triacilgliceróis.....	50
5.2.8 Conteúdo de gordura sólida.....	54
5.2.9 Consistência.....	63
<b>6 CONCLUSÃO.....</b>	<b>66</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>67</b>
<b>APÊNDICES.....</b>	<b>79</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Óleos vegetais modificados estruturalmente que apresentam triacilgliceróis de importância nutricional e propriedades físico-químicas alteradas possuem grande potencial de mercado. Óleos de menor valor comercial podem ser transformados em produtos com novas características físico-químicas e com maior funcionalidade, ampliando as possibilidades de formulações de produtos alimentícios com maior valor agregado (HASAN; SHAH; HAMEED, 2006).

A reação de interesterificação pode ser catalisada por via química ou enzimática. A via enzimática possui como vantagem a regioespecificidade, que permite maior controle sobre a distribuição posicional dos ácidos graxos no produto final, ser uma rota de produção ambientalmente segura e emprega condições reacionais mais brandas (temperaturas e pressões reduzidas), menos prejudiciais à qualidade dos lipídios estruturados. No entanto, algumas limitações da via enzimática incluem o preço da enzima e a baixa estabilidade operacional das lipases, que podem ser contornadas se a enzima for recuperada e reutilizada, e se sua estabilidade operacional for aumentada através de técnicas de imobilização (CRIADO et al., 2007; HOLM; COWAN, 2008; SOARES et al., 2013).

Muitos trabalhos aplicando a interesterificação enzimática vem sendo desenvolvidos para diferentes matérias-primas e aplicações. Paula et al. (2015) obtiveram um produto com maior espalhabilidade do que a manteiga e rico em ácidos graxos poliinsaturados, através da interesterificação de gordura de leite com óleo de soja. Ribeiro et al. (2017) sintetizaram lipídios estruturados de baixo valor calórico e ricos em ácido beênico (C 22:0) e oleico (C 18:1), a partir de óleo de girassol e óleo de crambe (*Crambe abyssinica*) totalmente hidrogenado, com características adequadas para aplicação como gordura para panificação e confeitaria. Lipídios estruturados adequados para a produção de margarinas de mesa com baixa concentração de isômeros *trans* foram produzidos por Soares et al. (2013) através da interesterificação de estearina de palma, óleo de coco e óleo de canola. Wirkowska-Wojdyła et al. (2016) obtiveram uma gordura adequada para ser aplicada em produtos de panificação após a interesterificação de óleo de castanha, óleo de canola e óleo de peixe. Adhikari<sup>b</sup> et al. (2010) produziram margarinas zero-*trans* ricas em tocoferóis e fitoesteróis por meio da interesterificação de uma mistura formada por óleo da noz de pinhão e estearina de palma, entre outros.

No caso de matrizes oleaginosas amazônicas, poucos estudos foram realizados. Speranza, Ribeiro e Macedo (2015) produziram lipídios estruturados que melhor atendem às

características necessárias para aplicação nas indústrias cosmética e de alimentos através da interesterificação enzimática de óleo patauá e estearina de palma. Speranza, Ribeiro e Macedo (2016), obtiveram bases lipídicas adequadas à formulação de cosméticos e produtos farmacêuticos através da interesterificação enzimática de uma mistura de óleo de buriti e gordura de murumuru. Oliveira et al. (2017) obtiveram bases lipídicas com características similares à margarina de mesa macia após a interesterificação enzimática de estearina de palma e óleo de patauá.

Assim, o estudo do processo de interesterificação enzimática de matrizes amazônicas e sua caracterização são necessários para ampliar as possibilidades de uso na indústria alimentícia, para o desenvolvimento de novos produtos e para agregação de valor aos produtos obtidos a partir das sementes oleaginosas da Amazônia.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver e caracterizar bases lipídicas obtidas por interesterificação enzimática de misturas entre óleo de pracaxi e gorduras de cupuaçu e estearina de palma, visando ampliar o potencial de aplicação desses produtos na indústria alimentícia.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

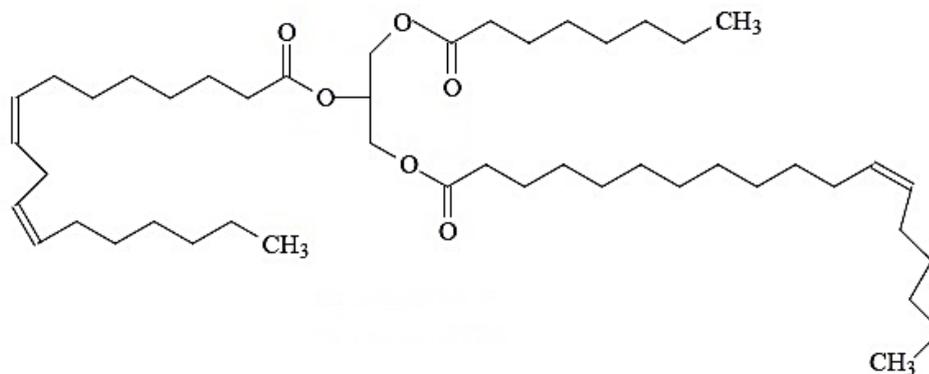
- Determinar a composição físico-química das amostras puras e suas misturas (antes e após a interesterificação enzimática).
- Estudar o processo de interesterificação enzimática de misturas em diferentes proporções óleo/gordura (% m/m) (40:60, 50:50, 60:40 e 70:30);
- Avaliar as propriedades físico-químicas dos produtos interesterificados visando sua aplicação na indústria alimentícia.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 ÓLEOS E GORDURAS VEGETAIS

Óleos e gorduras são nutrientes essenciais da dieta humana, apresentando papel vital mediante o fornecimento de ácidos graxos essenciais e energia. Em adição às qualidades nutricionais, os óleos e gorduras conferem consistência e características de fusão específicas aos produtos que os contém, atuam como meio de transferência de calor durante o processo de fritura e como carreadores de vitaminas lipossolúveis e aroma (GOH, 1994). Além disso, os lipídios afetam a estrutura, a estabilidade, o sabor, o aroma, a qualidade de estocagem e as características sensoriais e visuais dos alimentos (O'BRIEN, 2004).

Os óleos e gorduras são compostos predominantemente por triacilgliceróis (TAGs) (Figura 1). Estes são formados a partir da reação de esterificação de ácidos graxos com três grupos hidroxila de glicerol (NELSON; COX, 2011). Os ácidos graxos saturados são menos reativos e apresentam ponto de fusão superior em relação ao ácido graxo correspondente de mesmo tamanho de cadeia com uma ou mais duplas ligações (CAHOON; SCHMID, 2008; WEBER; MUKHERJEE, 2008).



**Figura 1** - Estrutura da molécula de um triacilglicerol (FREGOLENTE, 2010).

##### 3.1.1 Óleos e gorduras da Amazônia

A Floresta Amazônica (que ocupa uma área aproximada de 4,2 milhões de km<sup>2</sup> no território brasileiro) abriga uma das mais ricas variedades de espécies animais e vegetais. Ela representa 23 % da biodiversidade global e contém 70 % de todas as espécies de fauna e flora presentes em florestas tropicais de todo o mundo (IBGE, 2004).

Dentre os produtos florestais não madeireiros, as espécies oleaginosas amazônicas apresentam grande potencial para exploração econômica, principalmente por serem abundantes e renováveis, desde que sejam manejadas de maneira racional (SARAIVA, 2008).

Andiroba (*Carapa guianensis*), babaçu (*Orbignya oleifera*), buriti (*Mauritia flexuosa*), castanha do Brasil (*Bertholletia excelsa*), cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*), murumuru (*Astrocaryum murumuru*), pracaxi (*Pentaclethra macroloba*), tucumã (*Astrocaryum tucuma*), ucuúba (*Virola* spp.) e urucum (*Bixa orellana*) são exemplos representativos de várias espécies vegetais amazônicas de importância econômica, devido a extração de óleo ou gordura da semente ou polpa que apresentam diversas aplicações, sendo as mais importantes encontradas nos setores alimentício, farmacêutico e cosmético (PESCE, 2009; CLEMENT; LLERAS; VAN, 2005).

#### 3.1.1.1 Óleo de pracaxi

A *Pentaclethra macroloba*, conhecida popularmente como pracaxi, é uma planta oleaginosa distribuída ao longo do Norte do Brasil, Guiana e algumas partes da América Central (RAVEN; EVERT; EICHHORN, 2007; LORENZI, 2002). É uma espécie tamanho médio (8-14 m), comumente encontrada em áreas úmidas. Tem um fruto em forma de vagem, 20-25 cm de comprimento; é curvo e contém de 4 a 8 sementes (Figura 2) das quais o óleo é extraído (PESCE, 2009). Apresenta diversas aplicações medicinais, incluindo o tratamento de úlceras, dores de ouvido, erisipela (SILVA et al., 2005), infecções bacterianas (LEAL et al., 2011), renovação de células da pele (MAISTRO; MARQUES; TSUBOY, 2003; BANOVA; BANOVA; BASSANI, 2014), picadas de cobras (SILVA et al., 2005), e possui propriedades inseticidas que atuam sobre a inibição de proteases, como a tripsina e a quimotripsina de larvas de mosquito, especificamente contra o mosquito *Aedes aegypti*, da dengue e vetor da febre amarela (SANTIAGO et al., 2005).



**Figura 2** - Sementes de pracaxi (GALVÃO, 2012).

O óleo extraído das sementes de pracaxi apresenta predominância de ácido oleico e se destaca por possuir quantidade elevada de ácido beênico (C 22:0), raramente encontrado em outros óleos vegetais amazônicos, com aproximadamente 16 % de sua composição constituída por este ácido graxo (COSTA et al., 2014). A Tabela 1 apresenta a composição em ácidos graxos deste óleo.

**Tabela 1** - Composição em ácidos graxos do óleo de pracaxi.

Ácido graxo	%
Ácido láurico (C 12:0)	0,19
Ácido mirístico (C 14:0)	0,31
Ácido palmítico (C 16:0)	1,85
Ácido oleico (C 18:1)	53,55
Ácido linoleico (C 18:2)	13,05
Ácido linolênico (C 18:3)	0,13
Ácido aracnídico (C 20:0)	1,05
Ácido beênico (C 22:0)	16,14
Ácido lignocérico (C 24:0)	10,45

Fonte: COSTA et al., 2014.

Lisboa et al. (2002) descrevem que o óleo de pracaxi já é utilizado para fins alimentícios pelas populações tradicionais da Amazônia. Segundo Crespi e Guerra (2013), o uso principal do óleo de pracaxi na cozinha é no processo de fritura. De acordo com Pesce (2009), se misturado com gorduras vegetais de alto ponto de fusão, o óleo de pracaxi pode ser aplicado na fabricação de margarinas.

### 3.1.1.2 Gordura de cupuaçu

O cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) (Figura 3) é um fruto típico da Região Norte do Brasil com grande potencial econômico (CARVALHO; GARCIA; FARFÁN, 2008). Ele vem se destacando como um dos frutos regionais Amazônicos de intensa divulgação no território brasileiro e com grande potencial para a industrialização. O seu valor econômico está baseado, principalmente, na industrialização e comercialização da polpa, apreciada sob a forma de suco, creme, doces e outros processamentos culinários (COHEN; JACKIX, 2005).

As sementes de cupuaçu apresentam alto teor lipídico (62 %) a partir das quais se extrai uma gordura com características semelhantes à manteiga de cacau e com potenciais aplicações nas indústrias cosmética, farmacêutica e alimentícia (AZEVEDO; KOPCAK; MOHAMED, 2003). De acordo com Gilabert-Escrivá et al. (2002), a gordura de cupuaçu pode ser utilizada

em substituição à gordura hidrogenada na elaboração de bolos e possui a vantagem de não conter isômeros *trans*.



**Figura 3** - Fruto do cupuaçu (PUGLIESE, 2010).

A gordura de cupuaçu é rica em ácido oleico e ácido esteárico, como mostra a Tabela 2. Segundo Cohen e Jackix (2005), o elevado teor em ácidos graxos monoinsaturados confere a maciez característica da gordura.

**Tabela 2** - Composição em ácidos graxos da gordura de cupuaçu.

Ácido graxo	%
Ácido palmítico (C 16:0)	6,97
Ácido palmitoleico (C 16:1)	0,12
Ácido esteárico (C 18:0)	33,08
Ácido oleico (C 18:1)	42,32
Ácido linoleico (C 18:2)	3,55
Ácido linolênico (C 18:3)	0,13
Ácido aracnídico (C 20:0)	11,10
Ácido galadoleico (C 20:1)	0,41
Ácido beênico (C 22:0)	2,32

**Fonte:** SILVA et al., 2009.

### 3.1.1.3 Estearina de palma

O dendezeiro (*Elaeis guineensis*) é uma palmeira nativa da África ocidental e naturalizada no Brasil, inicialmente, no estado da Bahia, no fim do século XVI e depois na região amazônica onde, atualmente, estão as maiores áreas cultivadas (VENTURIERI et al., 2009).

O óleo de palma é extraído a partir da polpa do fruto da palma (Figura 4). Esse óleo contém uma mistura de triacilgliceróis de alto e baixo pontos de fusão. O óleo de palma pode ser separado em duas frações, oleína (fração líquida) e estearina (fração sólida), através do processo de fracionamento a seco sob condições controladas (SELLAMI et al., 2012; LAI et al., 2000).



**Figura 4** - Fruto da palma (JARDINE; BARROS; COLLARES, 2016).

A estearina de palma é a fração sólida do óleo de palma conhecida pelo seu alto percentual de ácidos graxos saturados, elevado ponto de fusão e alta estabilidade térmica (CHU et al., 2001). A estearina de palma exibe uma larga faixa de triacilgliceróis com diferentes perfis de fusão. Mesmo após o fracionamento, a estearina contém triacilgliceróis muito variados com temperaturas de fusão e cristalização largamente distribuídas (SONODA et al., 2004).

A estearina e a oleína de palma, por suas composições versáteis em ácidos graxos e triacilgliceróis, são matérias-primas adequadas para a interesterificação, produzindo uma variedade de produtos como margarinas, gorduras vegetais, biscoitos, sorvetes, chocolates, bolos e outros (GUNSTONE, 2002).

A estearina de palma não é usada diretamente para produção de margarina ou *shortenings*, devido ao seu elevado ponto de fusão, por conferir baixa plasticidade e fusão incompleta na temperatura do corpo ao produto final, mas contribui para a dureza desejável (SOARES et al., 2009). Contudo, produz gorduras com desejável plasticidade quando interesterificada com óleos vegetais. A utilização da estearina de palma como componente para interesterificação com óleos vegetais apresenta diversas vantagens, como a sua disponibilidade, matéria-prima barata e remoção da necessidade de hidrogenação (O'BRIEN, 2004).

A estearina de palma é rica em ácido palmítico e oleico, além de apresentar quantidade significativa dos ácidos esteárico e linoleico, como mostrado a Tabela 3 (WADA, 2007).

**Tabela 3** - Composição em ácidos graxos da estearina de palma.

Ácidos graxos	%
Ácido láurico (C 12:0)	0,40
Ácido mirístico (C 14:0)	1,20
Ácido palmítico (C 16:0)	54,50
Ácido palmitoleico (C 16:1)	0,10
Ácido esteárico (C 18:0)	5,50
Ácido oleico (C 18:1)	31,30
Ácido linoleico (C 18:2)	6,40
Ácido linolênico (C 18:3)	0,10
Ácido aracnídico (C 20:0)	0,50

**Fonte:** WADA, 2007.

### 3.2 MODIFICAÇÃO DE ÓLEO E GORDURAS

A maioria dos óleos e gorduras em seu estado natural possui aplicações limitadas devido a sua composição química. Para ampliar sua utilização, são modificados através de processos industriais como mistura, hidrogenação, fracionamento e interesterificação, ou pela combinação desses processos (SILVA; GIOIELLI, 2006; PETRAUSKAITE et al., 1999). A modificação de óleos e gorduras pode produzir lipídios com diferentes conteúdo de gordura sólida, textura, faixas de fusão e cristalização, estabilidade e interações químicas, o que pode garantir a obtenção de novas matérias-primas não encontradas na natureza (SPERANZA, 2014).

#### 3.2.1 Mistura, hidrogenação, fracionamento e interesterificação

Na formulação de produtos gordurosos, é comum a mistura de óleos e gorduras para se alcançar as especificações do produto final. As interações que ocorrem entre os triacilgliceróis nas misturas promovem alterações nas propriedades físicas das gorduras (SIMÕES; GIOIELLI; OLIVEIRA, 1997). A mistura é o método mais simples de modificação de óleos e gorduras. Os requisitos para a aplicação de gorduras em diversos produtos têm se tornado cada vez mais sofisticados. Contudo, há poucas formas pelas quais as especificações adequadas podem ser atingidas apenas utilizando-se a mistura de óleos e gorduras. Outras técnicas de modificação precisam ser utilizadas para um ou mais componentes da mistura a fim de alcançar as especificações comerciais dos produtos (CHIU; GIOIELLI; GRIMALDI, 2008).

Outro processo de modificação é a hidrogenação, que é um processo realizado com o intuito de modificar a composição, estrutura e consistência de um óleo. Este processo causa a redução do grau de insaturação do óleo e aumento de seu ponto de fusão, além do aumento da estabilidade oxidativa e funcionalidade das frações semi-sólidas produzidas (HAUMANN, 1994; HUI, 1996). No Brasil, a hidrogenação comercial de óleos vegetais data da década de 50, visando a produção de gorduras técnicas (*shortenings*), margarinas e gorduras para frituras, consolidando o emprego destas bases gordurosas em diversos alimentos como coberturas de chocolate, biscoitos, produtos de panificação e confeitaria, sorvetes, massas, batatas *chips*, entre outros (MARTIN et al., 2005).

A hidrogenação é um processo químico que consiste na adição de átomos de hidrogênio a ligações insaturadas entre carbonos formadores de cadeias de ácidos graxos. As reações são conduzidas com o aquecimento de óleos na presença de catalisador metálico (geralmente níquel) e hidrogênio. Dessa maneira, a hidrogenação reduz o número de duplas ligações da cadeia, aumentando o grau de saturação do lipídio e, conseqüentemente, seu ponto de fusão, diversificando suas possibilidades de aplicação industrial. A indústria geralmente utilizava processos de hidrogenação parcial, que promovem saturação incompleta das cadeias de ácidos graxos. A saturação incompleta, juntamente com a isomerização térmica decorrente do aquecimento do óleo, podem mudar as posições das duplas ligações nos ácidos graxos e produzir diversos isômeros geométricos e de posição, incluindo os isômeros *trans* (SEMMA, 2002; VALENZUELA; KING; NIETO, 1995; SABARENSE, 2003).

Durante muitas décadas, a formação de isômeros *trans* foi considerada uma vantagem tecnológica, uma vez que, devido ao seu maior ponto de fusão em relação aos correspondentes isômeros *cis*, favorecem a obtenção de gorduras com perfis de fusão adequados a diferentes aplicações industriais (RIBEIRO et al., 2007). Porém, vários estudos relataram uma relação entre ácidos graxos *trans* e riscos de doenças cardiovasculares, câncer de mama, diminuição do período de gravidez, distúrbios do sistema nervoso e da visão em recém-nascidos, obesidade, diabetes, entre outros (ADHIKARI<sup>a</sup> et al., 2010; DINÇ et al., 2011).

Outro método de modificação é o fracionamento, que consiste em um método físico de modificação de óleos e gorduras baseado nas diferenças dos pontos de fusão dos componentes triglicéridos e glicéridos parciais. Trata-se de um processo de separação termomecânica no qual ocorre a cristalização parcial dos triglicéridos de alto e baixo ponto de fusão, seguido de separação por decantação ou filtração (ZALIHA et al., 2004).

A interesterificação consiste em alternativa tecnológica ao processo de hidrogenação, uma vez que viabiliza a produção de óleos e gorduras com funcionalidades específicas, sem o inconveniente da formação dos isômeros *trans* (HAUMANN, 1994). A interesterificação é um método de modificação de óleos e gorduras que promove a troca e redistribuição dos ácidos graxos entre os triacilgliceróis (RODRIGUES; GIOIELLI; ANTON, 2003). Este processo permite modificar as características físicas e propriedades das misturas de óleos e gorduras. O produto resultante apresenta a mesma composição em ácidos graxos totais do material inicial, mas a composição em triacilgliceróis e as propriedades físicas são alteradas.

Segundo Ribeiro et al. (2009), a interesterificação é utilizada na indústria de óleos e gorduras para a fabricação de margarinas e *shortenings*. A interesterificação promove mudanças no comportamento de fusão, aumento da plasticidade dos sólidos resultantes e melhora a compatibilidade dos diferentes triacilgliceróis em estado sólido. Este processo também contribui para melhorar ou modificar o comportamento cristalino, diminuindo a tendência à recristalização durante a vida útil do produto (COSTALES; FERNANDEZ, 2009).

De acordo com O'Brien (2004) a interesterificação pode aumentar, reduzir ou não ter nenhum efeito sobre o ponto de fusão dependendo da composição dos óleos ou gorduras de partida. Por exemplo, a interesterificação de uma mistura de gordura completamente hidrogenada (SSS) de alto ponto de fusão com um óleo no qual predominam as ligações insaturadas (III ou SII), leva à formação de uma mistura com menor quantidade de ácidos graxos saturados e de ponto de fusão menor se comparado à mistura inicial. Por outro lado, se a interesterificação for aplicada a um óleo com uma elevada fração sólida de ácidos graxos, mas contendo poucas ligações saturadas, o processo favorece o aumento da proporção de triacilgliceróis saturados e o produto formado terá seu ponto de fusão mais elevado.

A interesterificação pode ocorrer sem a presença de catalisadores utilizando-se altas temperaturas (300 °C ou mais); no entanto, os resultados desejados não são alcançados. O equilíbrio é lentamente atingido e é acompanhado de decomposição e polimerização (ROZENAAL, 1992). Geralmente, a reação é realizada na presença de um catalisador, que pode ser de natureza química ou enzimática (AKOH; KIN, 2008).

Na interesterificação química, o catalisador mais frequentemente aplicado é o metóxido de sódio. Neste processo, a redistribuição dos ácidos graxos na molécula de glicerol ocorre de forma aleatória, não sendo possível controlar os produtos da reação. Já na interesterificação enzimática, devido à alta especificidade de algumas enzimas em relação ao tipo de ácido graxo e/ou a posição na molécula de glicerol, obtêm-se maior controle dos produtos da reação, sendo

possível estruturar lipídios que não poderiam ser sintetizados utilizando métodos químicos (WILLIS; MARANGONI, 2002).

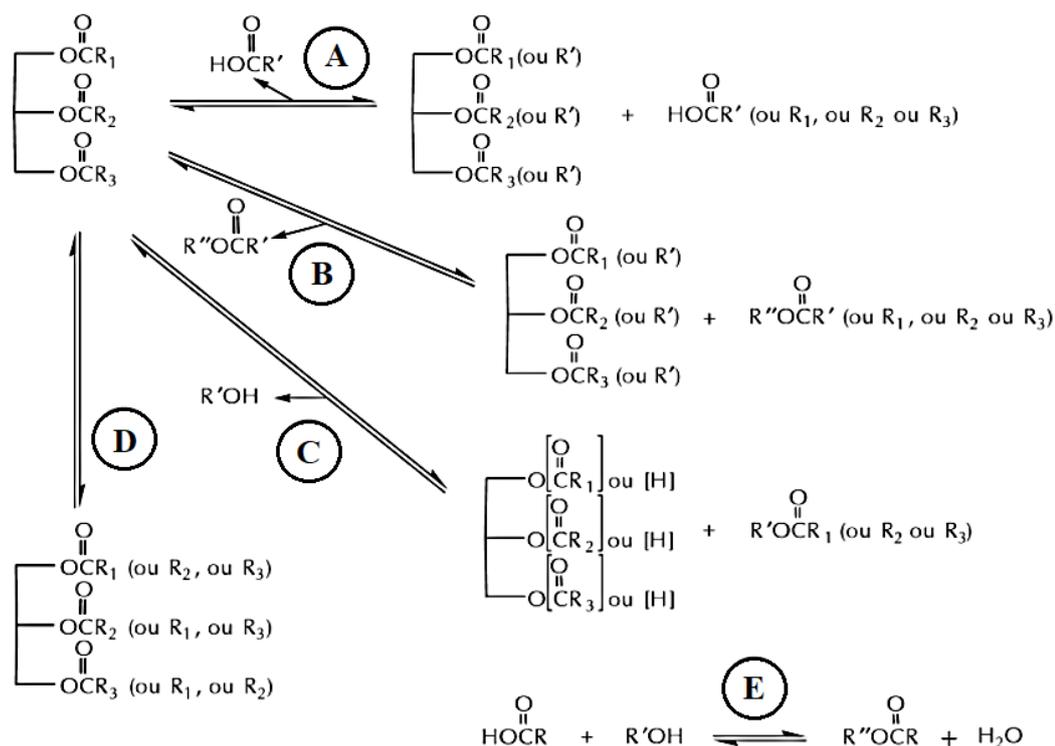
### 3.2.2 Interesterificação enzimática

A interesterificação enzimática, catalisada por lipase, reestrutura a composição em triacilgliceróis através da redistribuição de ácidos graxos e pode fornecer características nutricionais e funcionais especiais (SIMOENS; DECKELBAUM; CARPENTIER, 2004; NAGARAJU; LOKESH, 2007), bem como modificar as características físico-químicas (YAZDI; ALEMZADEH, 2011). A reação catalisada por enzimas também possui vantagem de formar produtos que não contêm ácidos graxos *trans* (DOGAN; JAVIDIPOUR; AKAN, 2007).

#### 3.2.2.1 Lipases

As lipases (triacilglicerol hidrolases, EC 3.1.1.3) são enzimas que catalisam a hidrólise de triacilgliceróis em uma reação heterogênea. Elas são amplamente distribuídas em microrganismos, plantas e animais superiores. Durante as duas últimas décadas, a pesquisa sobre lipases tem progredido substancialmente. Um grande número de espécies fúngicas e bacterianas são eficientes produtoras de lipases, as quais têm sido estudadas a partir de pontos de vista acadêmicos e industriais (HASAN; SHAH; HAMEED, 2006; REINEHR, 2015).

As lipases são enzimas que atuam na interface óleo/água de emulsões. São ativas inclusive em meios de baixo teor de umidade e em solventes orgânicos. Esta propriedade permite que elas sejam empregadas como biocatalisadores na síntese orgânica. A abordagem básica para a reestruturação de lipídios com lipases é o uso de um meio de reação microaquoso composto principalmente por um solvente orgânico ou apenas pelo substrato lipídico. Sob tais condições, a reatividade líquida dos lipídios com a lipase é em direção à ressíntese de ésteres e não à hidrólise (KOVAC et al., 2000). Os vários tipos de processos mediados por lipases que podem ser conduzidos (Figura 5) envolvem reações de um único substrato triacilglicerol (interesterificação, rota D); entre um triacilglicerol e uma fonte exógena de ácido graxo (acidólise, rota A), ésteres de ácido graxo (transesterificação, rota B) ou álcoois (alcoólise, rota C); ou entre cossustratos álcool e ácidos graxos (esterificação, rota E).



**Figura 5** - Tipos de reações de reestruturação de acil mediadas por lipases em meio microaquoso, (A) Acidólise, (B) transesterificação, (C) alcoólise, (D) interesterificação e (E) esterificação.

**Fonte:** FENNEMA, DAMODARAN e PARKIN (2010).

Na interesterificação, a reação se processa através de uma sucessão de hidrólise e ressíntese de triacilgliceróis (GRAILLE, 1999). A atividade de água ( $a_w$ ) da enzima na faixa de 0,3-0,5 propicia a máxima conversão nestas reações (GIOIELLI et al., 1994; WONG et al., 2000). A água deve estar presente em quantidade suficiente na estrutura proteica para garantir à enzima que sua estrutura espacial seja ativa (MARANGONI, 2002). A secagem completa leva a uma estrutura inativa, cuja atividade catalítica pode ser restaurada pela adição de água. Esta quantidade de água necessária e suficiente deve estar associada à enzima para que seja alcançada a atividade de água termodinâmica ótima, que permite a transferência de grupos acil, minimizando a hidrólise (GRAILLE, 1999).

Dependendo da fonte, as lipases podem ter massa molar variando entre 20 a 75 kDa, apresentam atividade em pH na faixa entre 4 a 9 e em temperaturas variando desde a ambiente até 70 °C. Lipases são geralmente estáveis em soluções aquosas neutras, apresentando atividade ótima na faixa de temperatura entre 30 e 40 °C, porém sua termoestabilidade varia consideravelmente em função da origem, sendo as lipases microbianas as que possuem maior estabilidade térmica (FREGOLENTE, 2010).

O sítio ativo das lipases fica localizado dentro de uma cavidade hidrofóbica que pode ser superficial ou profunda, de acordo com a homologia a que pertencem. Nesta cavidade se aloja o ácido graxo, de modo a posicionar a ligação éster alinhada com o sítio ativo. Essa cavidade é geralmente protegida pelos resíduos polipeptídicos que se abrem, expondo o sítio ativo quando a lipase se encontra na interface polar/apolar. Isso explica porque a grande maioria das lipases tem sua atividade aumentada sobre substratos insolúveis em água, na interface óleo/água (HOUDE; KADEMI; LEBLANC, 2004).

Com isso as lipases tornam-se biocatalisadores em diferentes áreas, devido à possibilidade de catalisar reações tanto em meio aquoso como em meio hidrofóbico. A capacidade de utilização de substratos, a sua estabilidade frente a temperatura, pH e solventes orgânicos, regioseletividade, quimiosseletividade e enantiosseletividade, são algumas características deste tipo de enzima (PANDEY et al., 1999; PINHEIRO et al., 2008).

As lipases microbianas constituem um importante grupo de enzimas de valor biotecnológico, principalmente devido à versatilidade de suas propriedades aplicadas e facilidade de produção em massa. As lipases microbianas são amplamente diversificadas em suas propriedades enzimáticas e especificidade de substrato, o que as torna muito atrativas para aplicações industriais (LIMA, 2001; HASAN; SHAH; HAMEED, 2006).

Essas enzimas apresentam aplicações em diversos setores industriais, como na indústria de detergentes, alimentos, química, farmacêutica, cosméticos, papel, limpeza e couro (SHARMA; CHISTI; BANERJEE, 2001). Na indústria alimentícia pode ser utilizada na panificação, no desenvolvimento de aromas, na produção de bebidas, no tratamento de efluentes destas mesmas indústrias, na produção de lipídios estruturados, entre outros (HASAN; SHAH; HAMEED, 2006; COLLA; REINEHR; COSTA, 2012).

Estudos anteriores sobre a produção de lipídios estruturados catalisada por lipase indicaram que o tempo de reação, a relação do substrato, a temperatura da reação, a proporção de enzima e o teor de água nos sistemas são fatores importantes na interesterificação. A seleção de parâmetros e seus intervalos para otimização dependem não apenas de sistemas de reação, mas também de fatores econômicos e práticos (OSÓRIO et al., 2001). Normalmente, quanto maior o tempo de reação e quanto maior a proporção de enzima, maior será o rendimento esperado do produto. No entanto, tempos de reação mais baixos e/ou menores proporções de enzimas são mais utilizados por razões econômicas e práticas. A temperatura mais alta aumentará a taxa de reação de acordo com a lei de Arrhenius. No entanto, as meias-vidas da enzima diminuirão com o aumento das temperaturas. Todos esses fatores, não afetam apenas a

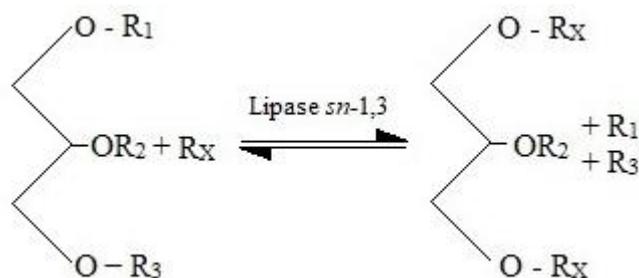
produção de produtos, mas também influenciam o conteúdo de subprodutos. Portanto, para a escolha das condições reacionais todos esses fatores devem ser levados em consideração (SHIN; AKOH; LEE, 2010; OSÓRIO et al., 2009).

A principal vantagem das lipases que diferencia a interesterificação enzimática da interesterificação química é a sua especificidade. A especificidade de ácidos graxos de lipases tem sido explorada para produzir lipídios estruturados para alimentos saudáveis e para enriquecer lipídios a ácidos graxos específicos para melhorar as propriedades nutricionais de gorduras e óleos. Existem três tipos principais de especificidades de lipase: posição (1), substrato (2) e estereoespecificidade (3) (KAPPOR; GUPTA, 2012).

### (1) Especificidade por posição:

Algumas lipases apresentam especificidade por posição, isto é, atuam em determinadas ligações éster do triacilglicerol. A maioria destas enzimas catalisam preferencialmente a reação nas posições 1 e 3 do triacilglicerol (Figura 6). Devido ao impedimento estérico na posição 2 do triacilglicerol, o sítio ativo da enzima dificilmente se liga a este ácido graxo; poucas lipases apresentam especificidade por esta posição (MARANGONI, 2002).

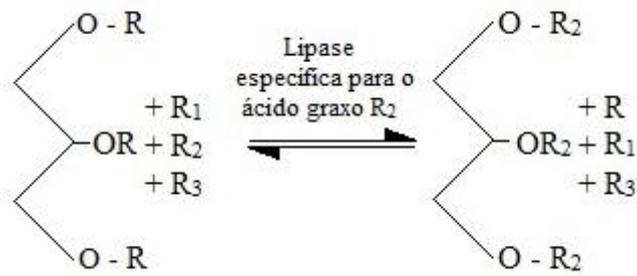
A especificidade posicional em relação ao ácido graxo tem grande importância no emprego das enzimas lipolíticas na produção de ácidos graxos livres, a partir de gorduras e óleos, nas reações de interesterificação e na esterificação de ácidos graxos por álcoois (NAGARAJAN, 2012).



**Figura 6** - Reação catalisada por lipase específica pela posição do ácido graxo no triacilglicerol (WEBER; MUKHERJEE, 2008).

### (2) Especificidade por substrato:

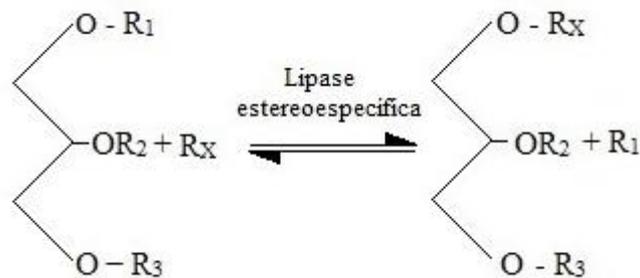
Muitas lipases são específicas para um tipo particular de ácido graxo (Figura 7). Outras podem demonstrar especificidade em relação ao comprimento da cadeia, com algumas sendo específica para ácidos graxos de cadeia longa e outras para ácidos graxos de cadeia média e curta. Algumas lipases também podem ser específicas para a posição da insaturação no ácido graxo (MARANGONI, 2002).



**Figura 7** - Reação catalisada por lipase específica pelo substrato (WEBER; MUKHERJEE, 2008).

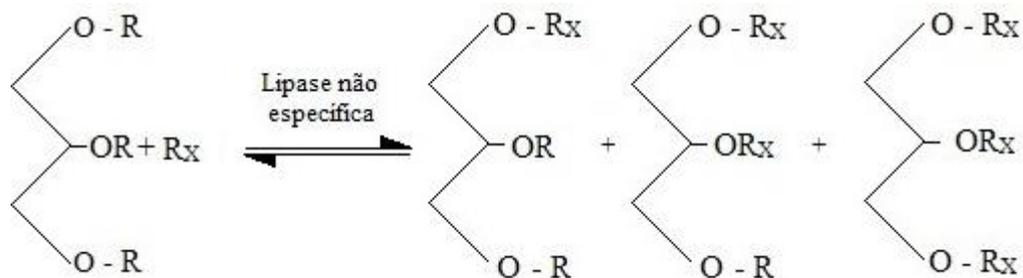
### (3) Estereoespecificidade:

As posições 1 e 3 no triacilglicerol são estericamente distintas. Algumas poucas lipases diferenciam entre os ésteres nestas posições, mas quando o fazem, as mesmas apresentam estereoespecificidade (Figura 8). Nas reações em que a lipase é estereoespecífica, as posições 1 e 3 são hidrolisadas a taxas diferentes (MARANGONI, 2002).



**Figura 8** - Reação catalisada por lipase estereoespecífica (WEBER; MUKHERJEE, 2008).

Há também o grupo das lipases não específicas (Figura 9). A reação com estas enzimas produz uma completa randomização dos ácidos graxos no triacilglicerol, gerando os mesmos produtos da interesterificação química. Exemplos de lipases não específicas incluem lipases derivadas de *Candida cylindraceae*, *Corynebacterium acnes*, e *Staphylococcus aureus* (MARANGONI, 2002).



**Figura 9** - Reação catalisada por lipase não específica (WEBER; MUKHERJEE, 2008).

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 MATÉRIA-PRIMA

O óleo de pracaxi e a gordura de cupuaçu brutos foram fornecidos pela Indústria Amazon Oil (Ananindeua, Pará, Brasil); e a estearina de palma refinada foi fornecida pela Agropalma (Belém, Pará, Brasil). O óleo e as gorduras foram obtidas por prensagem mecânica. A estearina de palma foi refinada pelo processo físico seguido do fracionamento.

### 4.2 ENZIMA

A enzima utilizada neste estudo foi a Lipozyme TL IM, específica pelas posições *sn*-1 e *sn*-3, fornecida pela empresa Novozymes Latin America Ltda (Araucária, Paraná, Brasil).

A Lipozyme TL IM é uma enzima apresentada sob a forma imobilizada em sílica, produzida por fermentação submersa de *Aspergillus oryzae* geneticamente modificado, onde o micro-organismo doador de gene que expressa a produção de lipase é o *Thermomyces lanuginosus* (ARAGÃO et al., 2009). De acordo com a ficha técnica da enzima (Apêndice A), a Lipozyme TL IM é um produto granulado, seco, de cor branca, com tamanho de partícula de 0,3-1,0 mm, possui atividade declarada de 250 IUN/g (Unidade de Interesterificação/g) e temperatura ótima na faixa de 50 a 75 °C.

### 4.3 MÉTODOS

#### 4.3.1 Preparo das misturas binárias

Após a completa fusão do óleo e das gorduras a temperatura de 60 °C, as misturas binárias foram preparadas em quatro proporções diferentes (óleo/gordura) (% m/m) 40:60, 50:50, 60:40 e 70:30, como apresentado na Tabela 4. Em seguida, as misturas foram filtradas, homogeneizadas com auxílio de agitador magnético durante 10 minutos e armazenadas sob refrigeração a 4 °C até o momento da realização dos ensaios.

**Tabela 4** - Composição das misturas binárias.

<b>Mistura</b>	<b>Proporção (% m/m)</b>
PRA:CUP	40:60
	50:50
	60:40
	70:30
PRA:EST	40:60
	50:50
	60:40
	70:30

PRA - óleo de pracaxi; CUP - gordura de cupuaçu; EST - estearina de palma.

#### 4.3.2 Atividade da lipase

A atividade enzimática da lipase foi determinada titulometricamente com base na hidrólise do azeite de oliva, conforme metodologia modificada por Soares et al. (1999).

O substrato foi preparado pela emulsão de 50 mL de azeite de oliva e 50 mL de goma arábica a 7 % (m/v). Em frascos Erlenmeyer de 125 mL com tampa rosqueável foram adicionados 5 mL de substrato, 4 mL de solução tampão fosfato de sódio (0,1 M, pH 7,0) e 100 mg de lipase imobilizada. Os frascos foram incubados a 37 °C por 30 minutos e 150 rpm, em agitador orbital. Após o período de incubação, a reação foi cessada pela adição de 15 mL de solução acetona/etanol (1:1). Os ácidos graxos liberados durante a reação foram titulados com solução de KOH 0,02 mol/L, usando fenolftaleína como indicador. Uma unidade de atividade de lipase foi definida como a quantidade de enzima que libera 1 μmol de ácido graxo por minuto de reação, nas condições do ensaio. Os brancos reacionais, sem a adição da enzima, foram preparados procedendo-se à incubação em agitador orbital e adicionando-se imediatamente a solução acetona/etanol (1:1), e em seguida foi realizada a titulação dos mesmos. A atividade enzimática foi calculada de acordo com a Equação 1.

$$A \text{ (U/mg)} = \frac{(V_a - V_b) \cdot M \cdot 10^6}{t \cdot m} \quad \text{Eq. (1)}$$

Onde:

A = atividade lipolítica da enzima (U/mg);

V<sub>a</sub> = volume de KOH gasto na titulação da amostra (mL);

$V_b$  = volume de KOH gasto na titulação do branco (mL);

$M$  = concentração da solução de KOH;

$t$  = tempo de reação (min);

$m$  = massa de enzima utilizada para a reação (mg).

### 4.3.3 Interesterificação enzimática

As reações de interesterificação enzimática foram realizadas conforme proposto por Silva<sup>b</sup> et al. (2009), com modificações. A interesterificação foi realizada em frascos Erlenmeyer de vidro de 125 mL com tampa rosqueável, em meio livre de solvente e adicionado gás nitrogênio para evitar a oxidação das amostras. As misturas binárias formadas pelo óleo de pracaxi e pelas gorduras de cupuaçu e estearina de palma foram previamente fundidas a 60-70 °C em banho termostático, e em seguida colocadas a 65 °C por 10 minutos ou até estabilização da temperatura. A lipase foi adicionada às misturas na proporção de 5 % (m/m). A enzima foi utilizada com sua atividade de água original ( $a_w = 0,35$ , a 25 °C), determinada por medida direta em termohigrômetro digital (Aqualab 4TEV, Decagon, Puma, WA, EUA).

As misturas foram incubadas em agitador orbital com agitação de 150 rpm para a reação de interesterificação, que foi realizada na temperatura de 60 °C por um período de 5 horas. Após o tempo da reação, as misturas foram centrifugadas por 15 minutos para separação das enzimas utilizadas. O sobrenadante foi filtrado em papel de filtro Whatman nº 4 contendo sulfato de sódio anidro para remoção de enzimas residuais e vestígios de umidade. As misturas interesterificadas foram armazenadas sob refrigeração a 4 °C até o momento das análises.

#### 4.3.3.1 Remoção dos ácidos graxos livres

Os ácidos graxos livres (AGL) foram removidos das misturas após a reação de interesterificação enzimática utilizando o método descrito por Long et al. (2003). A amostra interesterificada (30 g) foi transferida para um frasco Erlenmeyer de 250 mL e foram adicionados 50 mL de acetona:etanol (1:1 v/v), sendo em seguida homogeneizada. Essa mistura foi então titulada com NaOH 0,1 mol/L, utilizando fenolftaleína como indicador. A amostra foi então transferida para um funil de separação, e a fase inferior, contendo os ácidos graxos livres foi descartada. A fase oleosa foi lavada com água destilada a 80 °C para remover os vestígios

de NaOH e em seguida foi filtrada à vácuo em uma camada de sulfato de sódio anidro para remoção dos vestígios de umidade.

#### 4.3.3.2 Recuperação da enzima

A recuperação das lipases foi realizada de acordo com o método proposto por Michelin et al. (2015). Ao término de cada reação de interesterificação, as enzimas inicialmente separadas do meio reacional por centrifugação, conforme descrito no item 4.3.3, foram lavadas duas vezes com 10 mL de n-hexano e filtradas a vácuo. As enzimas recuperadas foram secas em estufa à vácuo, na temperatura de 40 °C, por 1 hora para remover o solvente utilizado para sua lavagem. As enzimas recuperadas foram mantidas em dessecador durante 24 horas antes de sua reutilização.

### 4.3.4 Caracterização físico-química

A caracterização físico-química das amostras puras e das misturas binárias foi realizada antes e após a interesterificação enzimática.

#### 4.3.4.1 Índice de acidez

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

#### 4.3.4.2 Índice de peróxido

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

#### 4.3.4.3 Ponto de fusão

O ponto de fusão foi determinado pelo método do tubo capilar aberto, imerso em água sob agitação e aquecimento, de acordo com o método oficial da AOCS Cc 1-25 (AOCS, 2004).

#### 4.3.4.4 Perfil de ácidos graxos

A composição de ácidos graxos foi determinada pela conversão de ácidos graxos em ésteres metílicos (FAMEs) com base no método proposto por Rodrigues, Darnet e Silva (2010) e identificados utilizando cromatografia gasosa (Varian modelo CP 3380, EUA) equipado com um detector de ionização de chama e com uma coluna capilar CP-Sil 88 (comprimento 60 m, diâmetro interno 0,25 mm, espessura 0,25 mm; Varian Inc., EUA). As condições de operação foram: hélio como gás de arraste com vazão de 0,9 mL/min, um detector FID a 250 °C, um injetor (split razão de 1:100) a 245 °C, um volume de injeção de 1 µL. A temperatura programada da coluna: 4 min a 80 °C e um aumento subsequente a 220 °C a 4 °C/min. Os picos de ácidos graxos individuais foram identificados por comparação dos tempos de retenção com os de misturas conhecidas de padrão de ácidos graxos (74X Nu-check-prep, Inc., EUA), executados sob as mesmas condições operacionais. Os resultados foram expressos em porcentagem relativa do total de ácidos graxos.

#### 4.3.4.5 Índice de iodo

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

#### 4.3.4.6 Índice de saponificação

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

#### 4.3.4.7 Determinação da qualidade nutricional

A qualidade nutricional do óleo, das gorduras e de suas respectivas misturas binárias foi avaliada com base em três índices nutricionais obtidos a partir da composição em ácidos graxos das amostras: índice de aterogenicidade, índice de trombogenicidade, e a razão entre os ácidos graxos hipocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos.

#### 4.3.4.7.1 Índices de aterogenicidade e trombogenicidade

O índice de aterogenicidade (IA) foi calculado através da Equação 2 descrita por Ulbricht e Southgate (2001).

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

O índice de trombogenicidade (IT) foi calculado através da Equação 3 (ULBRICHT; SOUTHGATE, 2001).

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

Sendo, C12:0, C14:0, C16:0 e C18:0, respectivamente, os ácidos láurico, mirístico, palmítico e esteárico;  $\Sigma AGMI$  representa a soma das concentrações de todos os ácidos graxos monoinsaturados;  $\Sigma AG\omega6$  representa a soma das concentrações dos ácidos graxos poliinsaturados ômega 6 e  $\Sigma AG\omega3$  representa a soma das concentrações dos ácidos graxos poliinsaturados ômega 3.

#### 4.3.4.7.2 Razão entre os ácidos graxos hipocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos

A razão entre os ácidos graxos hipocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos foi determinada através da Equação 4 (SANTOS-SILVA; BESSA; MENDES, 2002).

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

#### 4.3.4.8 Composição em triacilgliceróis

A composição em triacilgliceróis das amostras puras e das misturas não interesterificadas foi predita através do software 1,2,3 óleos, que utiliza um algoritmo matemático que descreve a distribuição dos ácidos graxos nas moléculas de triacilglicerol com base na tendência natural da distribuição regioespecífica, através da composição em ácidos graxos das amostras (Apêndice B) (ANON, 2015; ANTONIOSI FILHO; MENDES; LANÇAS,

1995). Para a predição, foram utilizados os valores médios de ácidos graxos com mais de 1% da composição total, e os TAGs em níveis preditos abaixo de 0,5% do total foram excluídos.

A composição em triacilgliceróis, quanto ao grau de saturação, foi calculada a partir da composição em triacilgliceróis individuais fornecida pelo software 1,2,3 óleos (ANON, 2015; ANTONIOSI FILHO; MENDES; LANÇAS, 1995).

#### 4.3.4.9 Estabilidade oxidativa

A estabilidade oxidativa das amostras foi determinada utilizando o equipamento Rancimat (Rancimat Metrohm modelo 873, EUA) de acordo com o método Cd 12b-92 (AOCS, 2004). Foram utilizados 3 g de amostra, temperatura de  $130 \pm 0,1$  °C e fluxo de ar de 20 L/h. A oxidação foi induzida pela passagem de ar pela amostra, mantida à temperatura constante. Os produtos voláteis de degradação foram coletados em água ultrapura, aumentando da condutividade elétrica desta. A curva de condutividade elétrica versus tempo foi automaticamente registrada no decorrer da reação. A estabilidade oxidativa foi expressa como período de indução oxidativa (PI). O período de indução é o tempo necessário para atingir o ponto de inflexão da curva de condutividade.

#### 4.3.4.10 Conteúdo de gordura sólida

O conteúdo de gordura sólida (CGS) foi determinado por ressonância magnética nuclear (RMN), de acordo com o método oficial da AOCS Cd 16b-93 (AOCS, 2004). O CGS foi determinado nas temperaturas de 10, 20, 25, 30, 35 e 40 °C. A análise foi realizada em duplicata.

#### 4.3.4.11 Consistência

A consistência foi determinada utilizando-se texturômetro microprocessado e automático, QTS-25 (Brookfield, EUA), operando em interface com um microcomputador, através do software Texture Pro versão 2.1. As misturas foram aquecidas em banho termostático à temperatura de 60-70 °C até a completa fusão dos cristais e em seguida foram acondicionadas em recipientes de 50 mL. O condicionamento foi realizado por 24 h em câmara BOD na temperatura de 5 °C para recristalização das amostras. Após este período as amostras foram mantidas por mais 24 h nas duas temperaturas de análise (5 °C e 10 °C).

A análise de consistência foi efetuada por meio de teste de penetração utilizando um probe cônico de acrílico com ponta não truncada e ângulo de 45°, nas condições descritas por D'Agostini, Ferraz e Gioielli (2000) (retorno ao início: distância = 10 mm; velocidade = 120 mm/min; tempo = 5 s; determinação da força de compressão (kgf)).

Para realizar a conversão dos dados de penetração em um parâmetro independente de peso e do tipo de cone, foi utilizada a Equação 5 proposta por Haighton (1959), para o cálculo do “yield value”.

$$C = K \cdot W/p^{1,6} \quad \text{Eq. (5)}$$

Onde:

C = “yield value”, em gf/cm<sup>2</sup>;

K = fator que depende do ângulo do cone (para ângulo de 45°, K é igual a 4700);

W = peso total do sistema, em g (para penetrômetro de cone);

p = profundidade de penetração (0,1 mm).

#### **4.3.5 Análise estatística**

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

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 ATIVIDADE DA LIPASE

A lipase comercial, purificada e imobilizada (Lipozyme TL IM, *sn*-1,3 específica), utilizada como catalisador das reações de interesterificação das misturas binárias, apresentou atividade lipolítica de  $10,68 \pm 0,22$  U/mg, em concordância com o resultado encontrado por Speranza et al. (2016), que obtiveram atividade lipolítica de 12,7 U/mg.

### 5.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA

A Tabela 5 apresenta o índice de acidez, índice de peróxido, estabilidade oxidativa e ponto de fusão das amostras puras e das misturas, antes e após a interesterificação enzimática.

#### 5.2.1 Índice de acidez

A acidez livre de óleos e gorduras é proveniente da hidrólise parcial dos glicerídeos, sendo sua medida importante, pois revela o estado de conservação de um óleo ou gordura, está relacionada com a qualidade da matéria-prima, processamento e, principalmente, com as condições de conservação do produto (RIBEIRO; SERAVALLI, 2007).

A legislação brasileira (BRASIL, 2005) estabelece que a acidez de óleos prensados a frio e não refinados deve ser de no máximo 4,0 mg KOH/g, este teor expresso em ácido oleico equivale a 2,0 %. Sendo assim, a maioria das amostras puras apresentou índice de acidez de acordo com o estabelecido na legislação brasileira. A estearina de palma foi a amostra pura que apresentou menor acidez por ser uma gordura refinada.

O conteúdo inicial de acidez nas misturas de óleo de pracaxi com gordura de cupuaçu (PC) variou de 2,49 a 3,17 %. E para as misturas formadas por óleo de pracaxi e estearina de palma (PE) a acidez variou de 0,72 a 1,23 %.

Ocorreram aumentos significativos no índice de acidez de todas as misturas após a interesterificação enzimática justificando a necessidade da etapa de remoção dos ácidos graxos livres (a acidez das misturas interesterificadas antes da etapa de remoção dos AGL está apresentada no Apêndice C).

O aumento da acidez após reações de interesterificação enzimática é esperado, pois a reação de interesterificação ocorre junto com a hidrólise. De acordo com Osório et al. (2001), os ácidos graxos livres podem ser formados durante a primeira etapa da interesterificação catalisada por lipase em que os ácidos graxos são liberados de acilgliceróis para o meio da reação. Apesar do baixo valor inicial de  $a_w$  do biocatalisador ( $0,35 \pm 0,00$ ), em todas as misturas foi observado o aumento do índice de acidez após a reação de interesterificação enzimática.

**Tabela 5** - Índice de acidez, índice de peróxido, período de indução (PI) a 130 °C e ponto de fusão das amostras puras e das misturas antes e após a interesterificação enzimática.

Amostra	Índice de Acidez (%) <sup>*</sup>	Índice de Peróxido (meq/kg)	Período de indução (h)	Ponto de fusão (°C)
Óleo de pracaxi	$1,80 \pm 0,03^f$	$12,66 \pm 0,35^a$	$2,32 \pm 0,25^h$	$18,37 \pm 0,15^m$
Gordura de cupuaçu	$4,03 \pm 0,01^a$	$3,87 \pm 0,29^j$	$3,60 \pm 0,70^{d,e,f}$	$29,63 \pm 0,21^i$
Estearina de palma	$0,21 \pm 0,03^m$	$2,92 \pm 0,39^k$	$6,51 \pm 0,01^a$	$51,13 \pm 0,29^a$
PC 40:60 NIE	$3,17 \pm 0,01^b$	$8,55 \pm 0,22^{g,h}$	$3,85 \pm 0,13^{b,c,d,e}$	$23,37 \pm 0,06^k$
PC 50:50 NIE	$2,95 \pm 0,02^c$	$9,31 \pm 0,14^{d,e,f}$	$3,45 \pm 0,18^{e,f,g}$	$21,77 \pm 0,12^k$
PC 60:40 NIE	$2,68 \pm 0,02^d$	$9,97 \pm 0,11^{c,d}$	$3,26 \pm 0,10^{f,g}$	$21,13 \pm 0,23^j$
PC 70:30 NIE	$2,49 \pm 0,05^e$	$11,20 \pm 0,19^b$	$3,02 \pm 0,01^g$	$19,60 \pm 0,17^l$
PC 40:60 IE	$0,43 \pm 0,00^{k,l}$	$8,99 \pm 0,41^{e,f,g}$	$2,08 \pm 0,06^h$	$28,97 \pm 0,81^i$
PC 50:50 IE	$0,65 \pm 0,04^j$	$9,78 \pm 0,19^{c,d}$	$2,16 \pm 0,05^h$	$34,10 \pm 0,17^g$
PC 60:40 IE	$0,51 \pm 0,00^k$	$10,45 \pm 0,16^c$	$2,19 \pm 0,06^h$	$36,03 \pm 0,12^f$
PC 70:30 IE	$0,39 \pm 0,05^l$	$11,80 \pm 0,18^b$	$2,09 \pm 0,11^h$	$36,80 \pm 0,17^f$
PE 40:60 NIE	$0,72 \pm 0,04^j$	$6,63 \pm 0,12^i$	$4,34 \pm 0,36^b$	$47,70 \pm 0,17^b$
PE 50:50 NIE	$0,85 \pm 0,04^i$	$8,07 \pm 0,14^h$	$4,18 \pm 0,06^{b,c}$	$46,17 \pm 0,75^c$
PE 60:40 NIE	$1,09 \pm 0,05^h$	$8,91 \pm 0,17^{e,f,g}$	$4,01 \pm 0,09^{b,c,d}$	$44,50 \pm 0,30^d$
PE 70:30 NIE	$1,23 \pm 0,04^g$	$9,60 \pm 0,09^{d,e}$	$3,82 \pm 0,02^{c,d,e}$	$39,73 \pm 0,06^e$
PE 40:60 IE	$0,14 \pm 0,03^m$	$7,12 \pm 0,20^i$	$3,62 \pm 0,45^{d,e,f}$	$28,93 \pm 0,76^i$
PE 50:50 IE	$0,36 \pm 0,02^l$	$8,73 \pm 0,23^{f,g,h}$	$3,28 \pm 0,06^{f,g}$	$32,23 \pm 0,12^h$
PE 60:40 IE	$0,68 \pm 0,01^j$	$9,40 \pm 0,12^{d,e,f}$	$3,15 \pm 0,08^{f,g}$	$32,20 \pm 0,36^h$
PE 70:30 IE	$0,39 \pm 0,02^l$	$10,33 \pm 0,23^c$	$3,03 \pm 0,12^g$	$32,03 \pm 0,23^h$

Os valores representam média  $\pm$  desvio padrão. \*% em ácido oleico. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística significativa entre as amostras ( $p \leq 0,05$ ). PC – mistura pracaxi:cupuaçu; PE – mistura pracaxi:estearina; NIE – mistura não interesterificada; IE – mistura interesterificada.

Soares et al. (2013) avaliaram o desempenho de duas lipases comerciais imobilizadas *sn*-1,3 específicas de *Thermomyces lanuginosus* (Lipozyme TL IM) e *Rhizomucor miehei* (Lipozyme RM IM) na reação de interesterificação de misturas formadas por estearina de palma, óleo de palma e azeite de oliva. As enzimas também foram utilizadas com suas atividades de água originais ( $a_w = 0,12$  para a Lipozyme TL IM e  $a_w = 0,43$  para a Lipozyme RM IM), na proporção de 5 % (m/m), por um período de 2 horas. E, assim como observado no

presente trabalho, os autores também relataram o aumento do índice de acidez após a reação de interesterificação enzimática. A acidez inicial das misturas não interesterificadas variou de 0,10 a 0,15 %. E após as reações, a acidez das amostras aumentou para 2,51 e 2,21 %, em média, para cada enzima utilizada, respectivamente.

Kostecka et al. (2003) aplicaram a interesterificação enzimática em diferentes tempos de reação (2, 4, 8 e 24 horas), utilizando como catalisador a Lipozyme RM IM (*Rhizomucor miehei*) na proporção de 8 % (m/m), para modificação de uma mistura formada por gordura de frango e óleo de girassol, na proporção 2:3 (m/m). Estes autores também observaram o aumento do índice de acidez após a interesterificação. O índice de acidez da mistura interesterificada por 4 horas aumentou de 0,10 % para 4,10 % após a reação de interesterificação.

A formação de ácidos graxos livres não é desejável, uma vez que se obtém um rendimento mais baixo de produtos interesterificados e também pode ocorrer a formação de aromatizantes (rancidez) por oxidação de ácidos graxos livres, fazendo-se necessária a remoção destes (ZAINAL; YUSOFF, 1999). Após a interesterificação enzimática foi realizada a neutralização dos ácidos graxos livres formados e sua remoção através da etapa de lavagem. Após esta etapa, uma pequena quantidade de ácidos graxos livres foi observada nas misturas interesterificadas.

### 5.2.2 Índice de peróxido

Os resultados obtidos para o índice de peróxido de todas as amostras puras e das misturas antes e após a reação de interesterificação estão de acordo com a legislação brasileira (BRASIL, 2005), que estipula que o índice de peróxido máximo de óleos prensados a frio e não refinados deve ser de 15 meq/kg.

O conteúdo inicial de peróxidos nas misturas de óleo de pracaxi com gordura de cupuaçu variou de 8,55 a 11,20 meq/kg. E para as misturas formadas por óleo de pracaxi e estearina de palma a acidez variou de 6,63 a 9,60 meq/kg.

A interesterificação enzimática não provocou mudanças significativas no índice de peróxido, com exceção à mistura PE 70:30 que apresentou aumento significativo no índice de peróxido. Kostecka et al. (2003), ao realizarem a interesterificação enzimática de uma mistura binária de gordura de frango e óleo de girassol, utilizando a Lipozyme RM IM, por 4 horas e na temperatura de 60 °C, também verificaram o aumento do índice de peróxido após a reação.

Antes da reação a mistura em questão apresentava índice de peróxido de 8,92 meq/kg, e depois da reação este índice aumentou para 12,91 meq/kg.

### 5.2.3 Estabilidade oxidativa

A estabilidade oxidativa não depende apenas da composição química, mas também da qualidade da matéria-prima, condições a que o produto é submetido durante o processamento e das condições de estocagem. É expressa pelo período de indução (PI), em equipamento apropriado e se trata do tempo decorrido entre o início da medição e o momento em que ocorre um aumento brusco na formação de produtos de oxidação (ANTONIASSI, 2001). De acordo com Kostecka et al. (2003) e Adhikari et al. (2012), o índice de estabilidade oxidativa é um dos parâmetros mais utilizados para fins de controle de qualidade e para a caracterização da estabilidade à oxidação de óleos e gorduras.

O óleo de pracaxi foi a amostra que apresentou menor período de indução quando comparado com os resultados obtidos para a gordura de cupuaçu e para a estearina de palma. Isso demonstra que a aplicação das gorduras na formulação das misturas pode melhorar sua estabilidade oxidativa. A menor estabilidade oxidativa do óleo em comparação às gorduras, deve-se ao menor teor de ácidos graxos saturados e maior teor de ácidos graxos insaturados presentes, tornando-o mais susceptível à oxidação (CHOE; MIN, 2006).

Lima et al. (2017), obtiveram período de indução a 110 °C para o óleo de pracaxi de 3,50 h, valor mais elevado do que o encontrado no presente trabalho tendo em vista a temperatura de análise menor. O estudo realizado por Awnar, Bhangar e Kazi (2003) mostrou que a cada 10 °C de aumento na temperatura de análise, corresponde a uma diminuição no período de indução por um fator de 1,99.

As misturas PC apresentaram índice de estabilidade oxidativa na faixa de 3,02 a 3,85 h. Já as misturas PE apresentaram índices de estabilidade oxidativa mais elevados, variando de 3,82 a 4,34 h.

Awnar, Bhangar e Kazi (2003) determinaram a estabilidade oxidativa de alguns produtos comerciais: óleo de palma (5,70 h), óleo de soja (1,51 h), óleos de cozinha (1,75 h; 1,80 h; 1,60 h), margarinas (2,20 h e 2,85 h), manteigas (2,75 h, 2,63 h e 2,49 h). Portanto, as misturas binárias apresentaram períodos de indução semelhantes aos apresentados pela maioria dos produtos comerciais analisados.

#### 5.2.4 Ponto de fusão

Segundo Scrimgeour (2005), o ponto de fusão de óleos e gorduras está relacionado com o tamanho da cadeia carbônica dos ácidos graxos, número de insaturações e suas posições na cadeia. O óleo de pracaxi apresentou ponto de fusão de 18,37 °C, próximo ao encontrado por Bezerra et al. (2017), que obtiveram 20,90 °C. Ao contrário do óleo de pracaxi, as gorduras apresentaram pontos de fusão mais elevados. A gordura de cupuaçu apresentou ponto de fusão de 29,63 °C, abaixo do encontrado por Quast, Luccas e Kieckbusch (2011) que obtiveram 34,62 °C; e próximo ao resultado obtido por Gilabert-Escrivá et al. (2002), que obtiveram 32,0 °C. A estearina de palma apresentou ponto de fusão de 51,13 °C, próximo ao resultado apresentado por Silva et al. (2010), que obtiveram 53,3 °C e também ao encontrado por Lee, Akoh e Lee (2008), que obtiveram 53,7 °C. Estes resultados justificam a necessidade de se preparar as misturas entre o óleo e as gorduras para conferir a plasticidade desejável e as características necessárias para que essas matérias-primas possam ser utilizadas em diversas aplicações.

À medida que a proporção de óleo de pracaxi aumentou nas misturas binárias, houve a diminuição do ponto de fusão, que pode ter sido causada pela incorporação de ácidos graxos monoinsaturados e poliinsaturados presentes no óleo.

Para as misturas formadas pelo óleo de pracaxi e pela gordura de cupuaçu ocorreu o aumento do ponto de fusão após a interesterificação enzimática. Já para as misturas contendo estearina de palma, comportamento inverso foi observado.

O aumento no ponto de fusão após a reação, ocorrido nas misturas PC, também foi observado por Oliveira et al. (2017) ao realizarem a interesterificação química de misturas binárias em quatro proporções (30:70; 40:60; 50:50 e 60:40) formadas por estearina de palma e óleo de patauá.

Assim como ocorreu para as misturas PE, Siew, Cheah e Tang (2007), ao estudarem as propriedades físicas de misturas binárias formadas por estearina de palma e óleo de canola nas proporções de 20:80, 30:70, 40:60, 50:50, 60:40 e 70:30, submetidas à interesterificação enzimática utilizando como catalisador a Lipozyme TL IM (*Thermomyces lanuginosus*) também observaram a redução no ponto de fusão de todas as misturas após o rearranjo dos ácidos graxos nos TAGs causado pela reação de interesterificação.

Ming, Ghazali e Let (1999), ao utilizarem Lipozyme IM 60 (*Rhizomucor miehei*) para interesterificação de misturas de óleo de girassol e estearina de palma em diferentes proporções

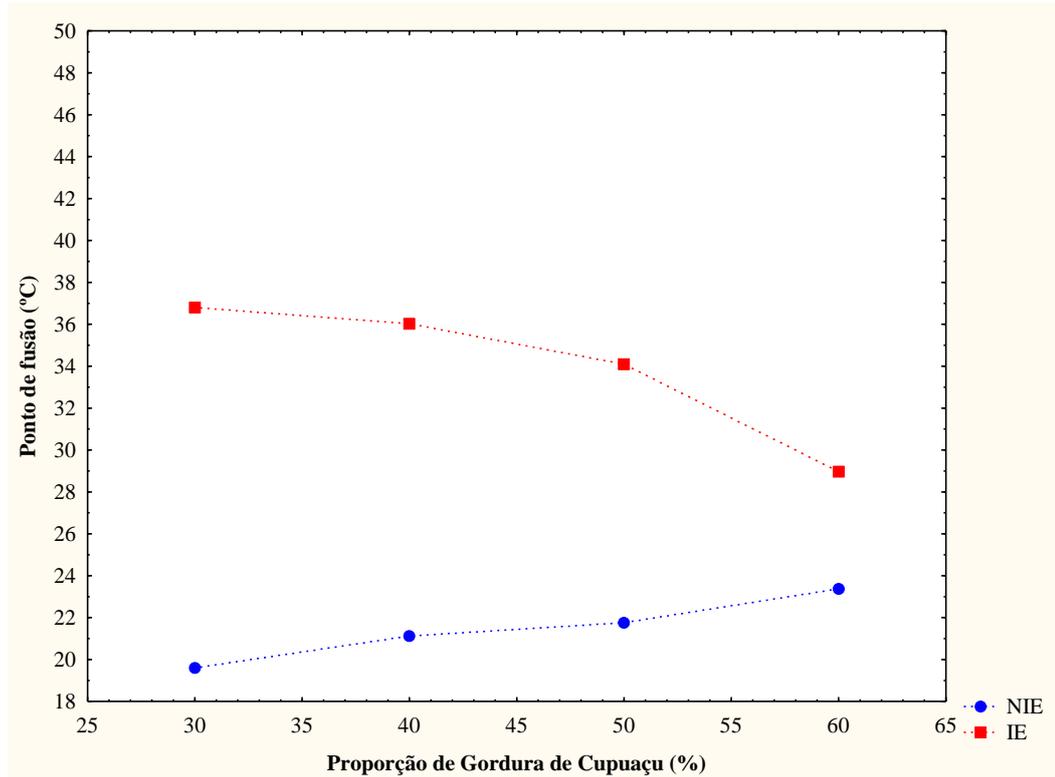
(20:80; 30:70; 40:60; 50:50 e 60:40) também observaram a redução no ponto de fusão de todas as misturas após a reação de interesterificação.

Para melhor visualização do efeito da reação de interesterificação enzimática na alteração do ponto de fusão das misturas estudadas, foram plotados os gráficos (Figura 10 e 11) que apresentam as mudanças no ponto de fusão das misturas em relação à proporção de gordura de cupuaçu e em relação à proporção de estearina de palma, respectivamente.

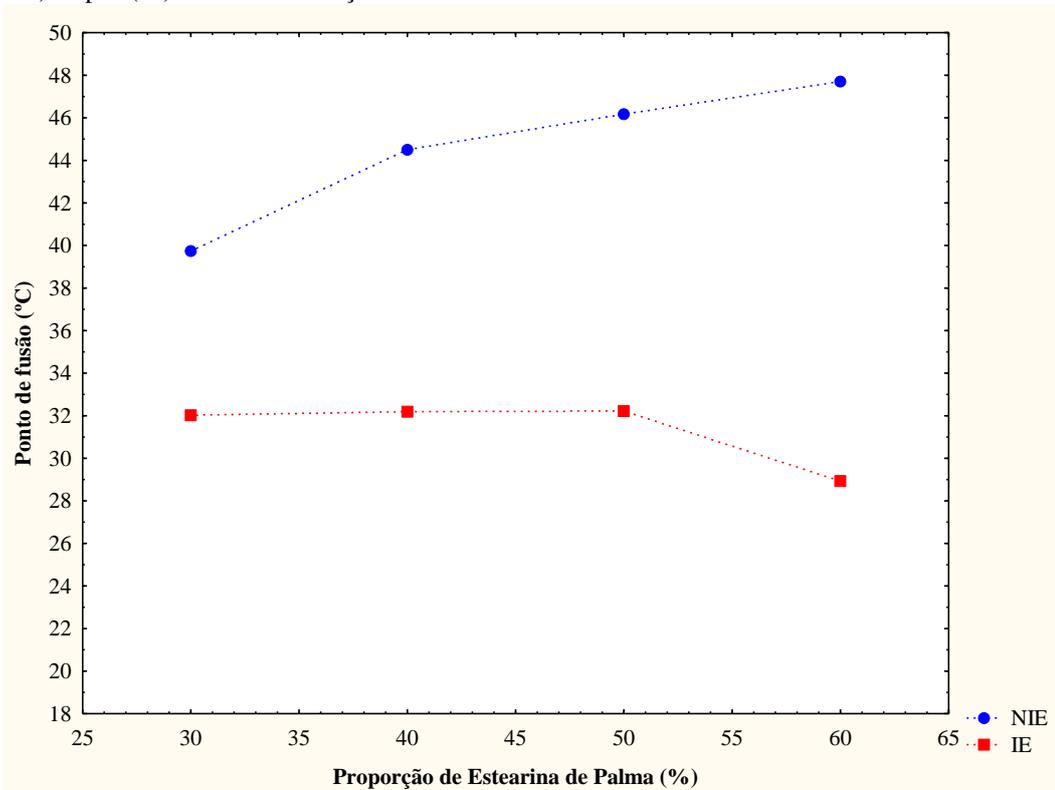
O percentual de aumento do ponto de fusão das misturas PC após a interesterificação em comparação com as misturas iniciais foi inversamente proporcional à proporção de gordura de cupuaçu presente nas misturas, como mostra a Figura 10. O aumento no ponto de fusão da mistura contendo 30 g/100 g de gordura de cupuaçu foi de 87,76 %, enquanto que, para a mistura contendo 60 g/100 g de cupuaçu foi de 23,96 %.

Já para as misturas PE, o percentual de redução do ponto de fusão após a interesterificação enzimática foi diretamente proporcional à proporção de estearina de palma presente, como mostra a Figura 11. A redução no ponto de fusão da mistura contendo 30 g/100 g de estearina de palma foi de 19,38 %, enquanto que, para a mistura contendo 60 g/100 g de estearina foi de 39,35 %.

Karabulut e Turan (2006) estudaram as propriedades de 15 margarinas e de 10 *shortenings* comercializados na Turquia, e obtiveram ponto de fusão variando de 31,2 a 34,9 °C para as margarinas, e na faixa de 36,8 a 43,0 °C para os *shortenings*. As misturas PC 50:50 e PE nas proporções 50:50, 60:40 e 70:30 após a interesterificação enzimática apresentaram ponto de fusão dentro da faixa observada para as margarinas, e as misturas PC 70:30 IE e PE 70:30 NIE apresentaram ponto de fusão em concordância com o observado para os *shortenings*.



**Figura 10** - Mudanças nos pontos de fusão em relação à proporção de gordura de cupuaçu das misturas binárias antes (NIE) e após (IE) a interesterificação enzimática.



**Figura 11** - Mudanças nos pontos de fusão em relação à proporção de estearina de palma das misturas binárias antes (NIE) e após (IE) a interesterificação enzimática.

### 5.2.5 Perfil de ácidos graxos

A composição em ácidos graxos das amostras puras e de suas misturas é apresentada na Tabela 6. O óleo de pracaxi apresentou elevada quantidade de ácidos graxos insaturados (76,46 %), destacando-se o ácido oleico (C 18:1), que é responsável por 56,96 % de sua composição em ácidos graxos, e o ácido linoleico (C 18:2), que corresponde a 18,30 %. De acordo com O'Brien (2004), óleos que apresentam elevada concentração de ácido oleico possuem aspectos positivos para a saúde devido seus baixos níveis de ácidos graxos saturados, potencial de redução do LDL colesterol no sangue e possuem alta estabilidade oxidativa. O óleo de pracaxi também apresentou elevada concentração de ácido beênico (C 22:0), raramente encontrado em outros óleos vegetais da Amazônia, sendo este responsável por 13,05 % de sua composição em ácidos graxos. O teor de ácido beênico presente no óleo de pracaxi está próximo aos resultados obtidos por Costa et al. (2014), que encontraram um teor de 16,14 %. O conteúdo de ácido beênico encontrado no óleo de pracaxi no presente estudo foi quatro vezes superior ao teor presente no óleo de amendoim (3,14 %), encontrado por Zambiasi et al. (2007). O teor significativo de ácido beênico presente no óleo de pracaxi é uma interessante característica para a elaboração das misturas, pois, de acordo com Kojima et al. (2010) o ácido beênico pode ser usado como um componente funcional de gorduras de baixo valor calórico e é esperado que as gorduras dietéticas que contêm ácido beênico reduzam a deposição de gordura visceral. Estudos realizados por Yang et al. (2001) demonstraram que a absorção intestinal do ácido beênico foi de cerca de 28 % em experiências realizadas com animais.

A gordura de cupuaçu apresentou elevado teor de ácidos graxos monoinsaturados (47,83 %) e saturados (39,73 %). Os principais ácidos graxos presentes na gordura de cupuaçu foram o ácido oleico (47,66 %), esteárico (24,21 %) e palmítico (10,02 %). A composição em ácidos graxos da gordura de cupuaçu apresentou algumas diferenças quando comparada com os resultados obtidos por Alviárez et al. (2016), que encontraram como principais ácidos graxos presentes na gordura de cupuaçu o ácido oleico (42,20 %), esteárico (32,90 %), araquídico (9,80 %) e palmítico (7,80 %). Assim como, aos resultados apresentados por Gilabert-Escrivá et al. (2002) que obtiveram como principais ácidos graxos o ácido oleico (42,0 %), esteárico (34,6 %), araquídico (9,9 %) e palmítico (8,5 %).

A estearina de palma apresentou elevada concentração de ácidos graxos saturados (51,80 %), sendo o ácido palmítico o principal ácido graxo saturado presente nesta gordura, e também apresentou alto teor de ácidos graxos insaturados (48,22 %), sendo o ácido oleico o

principal ácido graxo insaturado presente nesta gordura. Lee, Akoh e Lee (2008), encontraram concentração mais elevada de ácidos graxos saturados (69,90 %) e concentração inferior de insaturados (30,10 %), do que a encontrada no presente trabalho.

Os principais ácidos graxos presentes nas misturas de óleo de pracaxi e gordura de cupuaçu foram o ácido oleico (51,38 - 54,17 %), esteárico (9,34 - 15,71 %) e linoleico (11,50 - 14,90 %). E nas misturas de óleo de pracaxi e estearina de palma foram o ácido oleico (46,80 - 51,90 %), palmítico (15,02 a 27,68 %) e linoleico (11,92 - 15,11 %).

A adição de óleo de pracaxi à gordura de cupuaçu e à estearina de palma aumentou o conteúdo de ácidos graxos monoinsaturados e poliinsaturados, o que tornou as misturas mais interessantes para a nutrição humana devido os efeitos benéficos destes na prevenção de doenças cardiovasculares (MARTIN et al., 2006; NOORI et al., 2011).

As misturas em que houve a adição de 70 g/100 g de óleo de pracaxi à gordura de cupuaçu e à estearina de palma apresentaram aumentos de 13,51 % e 29,35 % no teor de monoinsaturados, e de 39,15 % e 99,50 % no teor de poliinsaturados, respectivamente. Conseqüentemente, ocorreu a redução no conteúdo de ácidos graxos saturados; com a adição de 70 g/100 g de óleo de pracaxi à gordura de cupuaçu e à estearina de palma na ordem de 28,54 % e 38,19 %, respectivamente.

O índice de iodo é a medida do grau de insaturação dos ácidos graxos presentes no óleo, sendo que, quanto maior o valor deste índice, maior o número de insaturação das cadeias de ácidos graxos das moléculas de triacilgliceróis (ADEWUYI et al., 2010). O óleo de pracaxi apresentou índice de iodo mais elevado em comparação com as demais amostras puras, pois este possui maior conteúdo de ácidos graxos insaturados. A adição de óleo de pracaxi à gordura de cupuaçu e à estearina de palma provocou o aumento no índice de iodo.

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

Os índices de saponificação e de iodo do óleo de pracaxi estão próximos aos obtidos por Lima et al. (2017), que obtiveram 83,70 g I<sub>2</sub>/100 g e 181,80 mg KOH/g, respectivamente. O índice de saponificação obtido para a gordura de cupuaçu está próximo ao descrito por Alviárez et al. (2016) que obtiveram 188,15 mg KOH/g. Quast, Luccas e Kieckbusch (2011) obtiveram índice de iodo de 30,0 g I<sub>2</sub>/100 g para a gordura de cupuaçu, valor inferior ao obtido. O índice

de iodo da estearina de palma está acima do encontrado por Dian, Sundram e Idris (2007), que obtiveram 41,4 g I<sub>2</sub>/100 g; enquanto que, o índice de saponificação (199,0 mg KOH/g) obtido por Sellami et al. (2012) está próximo ao obtido.

O índice de saponificação das misturas formadas por óleo de pracaxi e gordura de cupuaçu variou de 191,09 a 189,64 mg KOH/g e para as misturas contendo óleo de pracaxi e estearina de palma este índice foi mais elevado, variando de 194,49 a 191,30 mg KOH/g.

**Tabela 6** - Composição em ácidos graxos (%) das amostras puras e de suas misturas em diferentes proporções.

Ácidos Graxos	Óleo de pracaxi	Gordura de cupuaçu	Estearina de palma	Pracaxi:Cupuaçu				Pracaxi:Estearina			
				40:60	50:50	60:40	70:30	40:60	50:50	60:40	70:30
Ácido caprílico (C8:0)	0,10	0,06	0,05	0,08	0,08	0,09	0,09	0,07	0,11	0,08	0,09
Ácido cáprico (C10:0)	0,10	0,07	0,07	0,08	0,08	0,08	0,09	0,08	0,10	0,09	0,09
Ácido láurico (C12:0)	3,18	1,43	0,91	2,13	2,31	2,48	2,66	1,82	1,84	2,27	2,50
Ácido mirístico (C14:0)	1,57	2,55	1,11	2,16	2,06	1,96	1,86	1,29	1,32	1,38	1,43
Ácido pentadecanoico (C15:0)	-	0,02	0,05	0,01	0,01	0,01	0,01	0,03	-	0,02	0,02
Ácido palmítico (C16:0)	2,36	10,02	44,56	6,95	6,19	5,42	4,65	27,68	24,44	19,24	15,02
Ácido palmitoleico (C16:1)	0,10	0,18	0,12	0,15	0,14	0,13	0,13	0,11	-	0,11	0,11
Ácido margárico (C17:0)	-	-	0,10	-	-	-	-	0,06	-	0,04	0,03
Ácido esteárico (C18:0)	2,97	24,21	4,76	15,71	13,59	11,47	9,34	4,05	3,85	3,69	3,51
Ácido oleico (C18:1)	56,96	47,66	40,09	51,38	52,31	53,24	54,17	46,84	47,70	50,21	51,90
Ácido linoleico (C18:2)	18,30	6,97	7,66	11,50	12,63	13,77	14,90	11,92	13,15	14,04	15,11
Ácido linolênico (C18:3)	1,10	5,47	0,35	3,72	3,29	2,85	2,41	0,65	0,68	0,80	0,88
Ácido araquídico (C20:0)	0,21	0,35	0,19	0,30	0,28	0,27	0,25	0,20	0,19	0,20	0,20
Ácido beênico (C22:0)	13,05	1,03	-	5,84	7,04	8,24	9,44	5,22	6,60	7,83	9,13
∑ Saturados	23,54	39,73	51,80	33,25	31,63	30,01	28,39	40,49	38,46	34,84	32,02
∑ Monoinsaturados	57,06	47,83	40,21	51,53	52,45	53,37	54,29	46,95	47,70	50,32	52,01
∑ Poliinsaturados	19,40	12,44	8,01	15,22	15,92	16,62	17,31	12,57	13,83	14,84	15,98
Índice de Iodo*	83,66	67,53	48,77	73,98	75,59	77,21	78,82	62,73	65,59	69,71	73,19
Índice de Saponificação**	188,21	193,06	198,92	191,09	190,60	190,12	189,64	194,49	193,48	192,35	191,30

\*g I<sub>2</sub>/100 g; \*\*mg KOH/g

### 5.2.6 Determinação da qualidade nutricional

A qualidade nutricional das amostras puras e de suas misturas não interesterificadas foi avaliada através de diferentes índices qualitativos e encontra-se descrita na Tabela 7.

A adição de óleo às gorduras influenciou diretamente os indicadores de qualidade nutricional (IA e IT), que variaram de 0,15 a 1,04 e 0,17 a 2,01 para as amostras puras. Já para as misturas, o IA variou de 0,21 a 0,27 para as misturas contendo gordura de cupuaçu e de 0,34 a 0,58 para as misturas contendo estearina de palma. Os índices de aterogenicidade e trombogenicidade indicam o potencial de estímulo à agregação plaquetária, de forma que, quanto menores os valores de IA e IT, maior é quantidade de ácidos graxos anti-aterogênicos presentes em determinado óleo/gordura e consequentemente, maior é o potencial de prevenção ao aparecimento de doenças coronarianas (TURAN; SÖNMEZ; KAYA, 2007). Sendo assim, as misturas que mais se destacaram foram as que continham estearina de palma. A estearina de palma pura apresentou IA e IT elevados, o que indica que ela é uma matriz potencialmente aterogênica e trombogênica. No entanto, ao ser misturada com o óleo de pracaxi, esses índices melhoraram. As misturas em que houve a adição de 40 g/100 g de óleo de pracaxi à estearina de palma apresentaram reduções de 44,23 % no IA e de 47,76 % no IT.

O óleo de pracaxi foi a amostra pura que apresentou maior valor para a razão entre os ácidos graxos hipocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos. De acordo com Bentes et al. (2009) quanto maior a relação HH mais adequado nutricionalmente é o óleo ou a gordura. No que se refere às misturas, a relação entre os HH aumentou com a adição crescente de óleo de pracaxi às misturas. Nas misturas em que foi adicionado 40 g/100 g de óleo de pracaxi à gordura de cupuaçu e à estearina de palma apresentaram aumentos de 52,93 % e 95,24 %, respectivamente. Portanto, estes resultados sugerem que a adição do óleo de pracaxi às gorduras tornou o perfil de ácidos graxos das misturas mais apropriado para o consumo humano, com maior potencial para prevenir o aumento do colesterol sérico, principalmente o LDL e, consequentemente, reduzir o risco de doenças coronarianas (ASCHERIO; WILLETTE, 1995).

**Tabela 7** - Índices de qualidade nutricional do óleo de pracaxi, gordura de cupuaçu, estearina de palma e de suas misturas em diferentes proporções.

	Óleo de pracaxi	Gordura de cupuaçu	Estearina de palma	Pracaxi:Cupuaçu				Pracaxi:Estearina			
				40:60	50:50	60:40	70:30	40:60	50:50	60:40	70:30
IA	0,15	0,36	1,04	0,27	0,24	0,23	0,21	0,58	0,51	0,42	0,34
IT	0,17	0,82	2,01	0,58	0,51	0,45	0,38	1,05	0,91	0,70	0,55
HH	19,46	4,78	1,05	7,31	8,27	9,46	10,97	2,05	2,39	3,15	4,13

IA – índice de aterogenicidade; IT - índice de trombogenicidade; HH – razão entre os ácidos graxos hipocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos.

### 5.2.7 Composição em triacilgliceróis

A Tabela 8 apresenta a composição em triacilgliceróis, quanto ao grau de saturação, das amostras puras e das misturas binárias não interesterificadas. E as Tabelas 9 e 10 apresentam as composições em triacilgliceróis das amostras puras e das suas respectivas misturas binárias não interesterificadas, ambas obtidas utilizando o software 1,2,3 óleos, de acordo com o proposto por Antoniosi, Mendes e Lanças (1995).

**Tabela 8** - Composição em triacilgliceróis das amostras puras e das misturas não interesterificadas.

TAG (%)	Óleo de pracaxi	Gordura de cupuaçu	Estearina de palma	Pracaxi:Cupuaçu				Pracaxi:Estearina			
				40:60	50:50	60:40	70:30	40:60	50:50	60:40	70:30
SSS	-	4,36	13,94	2,62	2,18	1,74	1,31	8,37	6,97	5,58	4,18
SSI	9,18	27,76	38,96	20,33	18,47	16,61	14,75	27,05	24,07	21,09	18,11
SII	42,08	44,45	36,05	43,50	43,26	43,02	42,79	38,46	39,06	39,66	40,27
III	48,70	23,43	11,05	33,54	36,06	38,59	41,12	26,11	29,87	33,64	37,40

TAG - triacilglicerol; SSS - trissaturados; SSI - dissaturados monoinsaturados; SII - monossaturados diinsaturados; III - triinsaturados.

Devido os altos teores de ácido oleico (56,96 %), linoleico (18,30 %) e beênico (13,05 %), que são os três principais ácidos graxos presentes no óleo de pracaxi, as espécies de TAGs que combinam tais ácidos graxos foram as principais espécies observadas no óleo (OOO (Oleico-Oleico-Oleico, 20,26 %), OLO (Oleico-Linoleico-Oleico, 19,55 %) e BeOO (Beênico-Oleico-Oleico, 13,92 %)). Ainda não existem dados publicados referentes ao perfil de TAG do óleo de pracaxi. No entanto, comparando-se a composição em TAG do óleo de pracaxi, quanto ao grau de saturação, com a de outros óleos vegetais da região amazônica, este apresenta composição próxima à obtida por Speranza et al. (2016) para o óleo de buriti, que apresentou 0,9 % de SSS, 9,8 % de SSU, 39,3 % de SUU e 50,0 % de UUU.

Na gordura de cupuaçu os TAGs presentes em maiores quantidades foram o StOO (Estearico-Oleico-Oleico, 18,37 %), OOO (Oleico-Oleico-Oleico, 12,05 %) e StOSt (Estearico-Oleico-Estearico, 9,34 %). Os resultados obtidos por Silva<sup>a</sup> et al. (2009) para a composição em TAG da gordura de cupuaçu apresentaram algumas diferenças quando comparados aos resultados obtidos no presente trabalho, pois este autor obteve como principais TAGs da gordura de cupuaçu o StOSt (27,48 %), StOO (18,09 %), e POSt (13,19 %).

Os principais TAGs presentes na estearina de palma foram o POP (Palmítico-Oleico-Palmítico, 26,21 %), POO (Palmítico-Oleico-Palmítico, 22,70 %) e PPP (Palmítico-Palmítico-Palmítico, 10,09 %). Gunstone (2002), ao avaliar a composição em TAGs da estearina de palma, com índice de iodo igual a 45,8 g I<sub>2</sub>/100 g, obteve como principais TAGs o POP (30,9 %), POO (18,4 %) e PPP (12,5 %), em concordância com os resultados obtidos no presente trabalho. Os resultados apresentados por D'Agostini e Gioielli (2002) para a composição em TAG teórica, quanto ao grau de saturação, da estearina de palma estão de acordo com os resultados obtidos no presente trabalho, pois tais autores obtiveram 10,3 % de SSS, 39,0 % de TAGs diinsaturados, 39,0 % de monossaturados e 11,7 % de triinsaturados.

**Tabela 9** - Composição em triacilgliceróis das amostras puras e das misturas não interesterificadas.

<b>Tipo de TAG</b>	<b>PRA</b>	<b>CUP</b>	<b>PC 40:60</b>	<b>PC 50:50</b>	<b>PC 60:40</b>	<b>PC 70:30</b>
LaOS (48:1 <sup>a</sup> )	-	1,07	0,64	0,54	0,43	0,32
MOP (48:1)	-	0,82	0,49	0,41	0,33	0,25
LaOO (48:2)	3,40	1,05	1,99	2,23	2,46	2,70
LaLO (48:3)	2,19	-	0,88	1,09	1,31	1,53
StPP (50:0)	-	0,81	0,49	0,41	0,33	0,24
StOM (50:1)	-	1,99	1,19	1,00	0,80	0,60
POP (50:1)	-	1,60	0,96	0,80	0,64	0,48
MOO (50:2)	1,70	1,96	1,85	1,83	1,80	1,78
MLO (50:3)	1,09	0,57	0,78	0,83	0,88	0,94
StPSt (52:0)	-	1,97	1,18	0,98	0,79	0,59
BeOLa (52:1)	1,56	-	0,62	0,78	0,93	1,09
StOP (52:1)	-	7,73	4,64	3,87	3,09	2,32
StLP (52:2)	-	1,13	0,68	0,56	0,45	0,34
POO (52:2)	2,55	7,60	5,58	5,08	4,57	4,07
PLO (52:3)	1,64	2,22	1,99	1,93	1,87	1,81
StLnP (52:3)	-	0,89	0,53	0,44	0,35	0,27
PLnO (52:4)	-	1,74	1,05	0,87	0,70	0,52
StStSt (54:0)	-	1,58	0,95	0,79	0,63	0,47
BeOM (54:1)	0,78	-	0,31	0,39	0,47	0,55
StOSt (54:1)	-	9,34	5,60	4,67	3,73	2,80
StOO (54:2)	3,19	18,37	12,30	10,78	9,26	7,74
StLSt (54:2)	-	1,36	0,82	0,68	0,54	0,41
OOO (54:3)	20,26	12,05	15,33	16,15	16,97	17,80
StLnSt (54:3)	-	1,07	0,64	0,54	0,43	0,32
StLO (54:3)	2,05	5,36	4,03	3,70	3,37	3,04
OLO (54:4)	19,55	5,27	10,98	12,41	13,84	15,27
StLnO (54:4)	-	4,21	2,53	2,10	1,68	1,26
OLL (54:5)	6,29	0,77	2,98	3,53	4,08	4,63
OLnO (54:5)	1,17	4,14	2,95	2,65	2,36	2,06
StLnL (54:5)	-	0,61	0,37	0,31	0,25	0,18
LLL (54:6)	0,67	-	0,27	0,34	0,40	0,47
OLnL (54:6)	0,75	1,21	1,03	0,98	0,93	0,89
BeOP (56:1)	1,17	-	0,47	0,58	0,70	0,82
BeOSt (58:1)	1,46	0,77	1,04	1,11	1,18	1,25
BeOO (58:2)	13,92	0,75	6,02	7,34	8,65	9,97
BeLO (58:3)	8,91	-	3,56	4,45	5,34	6,23
BeLL (58:4)	1,44	-	0,58	0,72	0,86	1,01
BeOBe (62:1)	3,19	-	1,28	1,59	1,91	2,23
BeLBe (62:2)	1,03	-	0,41	0,51	0,62	0,72

**Tabela 10** - Composição em triacilgliceróis das amostras puras e das misturas não interesterificadas.

<b>Tipo de TAG</b>	<b>PRA</b>	<b>EST</b>	<b>PE 40:60</b>	<b>PE 50:50</b>	<b>PE 60:40</b>	<b>PE 70:30</b>
MPP (46:0 <sup>a</sup> )	-	0,72	0,43	0,36	0,29	0,22
PPP (48:0)	-	10,09	6,05	5,04	4,03	3,03
MOP (48:1)	-	1,25	0,75	0,62	0,50	0,37
LaOO (48:2)	3,40	-	1,36	1,70	2,04	2,38
LaLO (48:3)	2,19	-	0,88	1,09	1,31	1,53
StPP (50:0)	-	3,14	1,88	1,57	1,25	0,94
POP (50:1)	-	26,21	15,72	13,10	10,48	7,86
PLP (50:2)		5,03	3,02	2,52	2,01	1,51
MOO (50:2)	1,70	0,54	1,00	1,12	1,24	1,35
MLO (50:3)	1,09	-	0,44	0,55	0,66	0,77
BeOLa (52:1)	1,56	-	0,62	0,78	0,93	1,09
StOP (52:1)	-	5,43	3,26	2,72	2,17	1,63
StLP (52:2)	-	1,04	0,63	0,52	0,42	0,31
POO (52:2)	2,55	22,70	14,64	12,62	10,61	8,59
PLO (52:3)	1,64	8,72	5,89	5,18	4,47	3,76
PLL (52:4)	-	0,84	0,50	0,42	0,33	0,25
BeOM (54:1)	0,78	-	0,31	0,39	0,47	0,55
StOO (54:2)	3,19	2,35	2,69	2,77	2,85	2,94
OOO (54:3)	20,26	6,55	12,04	13,41	14,78	16,15
StLO (54:3)	2,05	0,90	1,36	1,48	1,59	1,71
OLO (54:4)	19,55	3,78	10,09	11,66	13,24	14,82
OLL (54:5)	6,29	0,73	2,95	3,51	4,06	4,62
OLnO (54:5)	1,17	-	0,47	0,58	0,70	0,82
LLL (54:6)	0,67	-	0,27	0,34	0,40	0,47
OLnL (54:6)	0,75	-	0,30	0,38	0,45	0,53
BeOP (56:1)	1,17	-	0,47	0,58	0,70	0,82
BeOSt (58:1)	1,46	-	0,58	0,73	0,88	1,02
BeOO (58:2)	13,92	-	5,57	6,96	8,35	9,74
BeLO (58:3)	8,91	-	3,56	4,45	5,34	6,23
BeLL (58:4)	1,44	-	0,58	0,72	0,86	1,01
BeOBe (62:1)	3,19	-	1,28	1,59	1,91	2,23
BeLBe (62:2)	1,03	-	0,41	0,51	0,62	0,72

<sup>a</sup>Em X:Y, X - número carbonos (exceto carbonos do glicerol), Y - número de duplas ligações. La - ácido láurico; M - ácido mirístico; P - ácido palmítico; St - ácido esteárico; O - ácido oleico; L - ácido linoleico; Ln - ácido linolênico; Be - ácido beênico.

### 5.2.8 Conteúdo de gordura sólida

Os resultados do conteúdo de gordura sólida (CGS) das amostras puras e das misturas antes e após a interesterificação, nas temperaturas de 10 a 45 °C, são apresentados na Tabela 11. E os resultados obtidos para as misturas antes e após a interesterificação enzimática estão representados graficamente nas Figuras 12 e 13. O aumento de temperatura provocou a redução no conteúdo de gordura sólida em todas as amostras analisadas devido a fusão gradativa dos cristais. Assim como, a adição de óleo de pracaxi às misturas.

O óleo de pracaxi apresentou sólidos até a temperatura de 20 °C. Enquanto as gorduras apresentaram sólidos em maior faixa de temperatura, destacando-se a estearina de palma, que apresentou sólidos em todas as temperaturas analisadas. Segundo Sonoda et al. (2004), esse perfil de sólidos característico da estearina de palma é causado pela presença de uma larga faixa de triacilgliceróis com temperaturas de fusão largamente distribuídas. De acordo com O'Brien (2004), as informações obtidas a partir da curva de conteúdo de gordura sólida em função da temperatura são utilizadas para prever a aplicabilidade de uma gordura. Os teores de sólidos/líquidos a várias temperaturas fornecem boas indicações sobre o comportamento geral da gordura.

O maior conteúdo de gordura sólida foi observado na temperatura de 10 °C para todas as amostras analisadas. Nesta temperatura, as misturas PC não interesterificadas apresentaram conteúdo de sólidos na faixa de 38,82 % a 25,49 %. Enquanto as misturas PE apresentaram maior faixa de sólidos, variando de 64,02 % a 21,15 %.

Em alguns sistemas contendo gorduras, como margarinas, é desejável a presença de alto teor de sólidos à temperatura ambiente para conferir uma estrutura cristalina adequada aos produtos processados; e baixo teor de sólidos em altas temperaturas, de modo que ocorra fusão completa à temperatura corporal (WOERFEL,1995).

De modo geral, a interesterificação enzimática provocou o aumento do CGS das misturas PC, pois apenas na temperatura de 10 °C foi observada a redução no teor de sólidos após a reação. As misturas PC, que antes da reação apresentavam sólidos até a temperatura de 25 °C, passaram a apresentar conteúdo de gordura no estado sólido até a temperatura de 35 °C. Oliveira et al. (2017), ao realizarem a interesterificação química de misturas binárias (30:70, 40:60, 50:50 e 60:40) formadas por estearina de palma e óleo de pataúá, também verificaram o aumento do CGS das misturas nas proporções 40:60 e 60:40 após a interesterificação. De acordo com esses autores, o CGS aumentou devido a

alteração na composição em triacilgliceróis, com a elevação no conteúdo de triacilgliceróis trissaturados e monoinsaturados após a reação de interesterificação química.

A interesterificação enzimática provocou a redução do CGS de todas as misturas PE. Depois da interesterificação, as misturas PE passaram a apresentar CGS até a temperatura de 35 °C. O mesmo comportamento foi observado por Karabulut, Turan e Ergin (2004), ao aplicarem a interesterificação química em misturas estearina de palma totalmente hidrogenada ou estearina de palma com óleos de canola e de algodão, em diferentes proporções; em que o processo de modificação resultou na diminuição do teor de gordura sólida para todas as amostras, relacionada ao decréscimo no teor de triacilgliceróis trissaturados e monoinsaturados.

O aumento no CGS para as misturas PC e a redução para as misturas PE, está em concordância com os resultados obtidos na análise de ponto de fusão (Tabela 5), pois o mesmo comportamento foi observado.

O conteúdo de gordura sólida de uma margarina a 25 °C está relacionado com a estabilidade do produto e a resistência à exsudação de óleo à temperatura ambiente; a 35 °C, o conteúdo de gordura sólida está relacionado à textura e às propriedades para a liberação de aroma e sabor na boca (DIAN; SUNDRAM; IDRIS, 2007).

De acordo com os critérios estabelecidos por O'Brien (2004), matrizes lipídicas apresentam boa resistência à exsudação do óleo, na temperatura de 20 °C, se o teor de sólidos for maior que 10 % e o teor de gordura sólida, na temperatura de 30 °C, for menor que 4 %. Sendo assim, as misturas PC 50:50, PC 60:40, PC 70:30, PE 60:40 e PE 70:30, após a interesterificação enzimática, apresentam boa resistência à exsudação do óleo e são adequadas para aplicação na temperatura de 30 °C, já que não irão conferir a sensação de arenosidade na boca.

De acordo com Lida et al. (2002) o conteúdo de gordura sólida de margarinas a 10 °C não deve ser maior que 32 %, para que seja garantida espalhabilidade a temperaturas de refrigeração. Sendo assim, a interesterificação enzimática melhorou a espalhabilidade das misturas, pois, antes da reação apenas três misturas (PC 60:40, PC 70:30 e PE 70:30) apresentavam CGS de acordo, e após a interesterificação seis misturas (PC 50:50, PC 60:40, PC 70:30, PE 50:50, PE 60:40 e PE 70:30) apresentaram CGS em concordância com o estabelecido por este autor.

A fim de evitar a produção de uma sensação cerosa na boca, as margarinas devem obrigatoriamente apresentar CGS abaixo de 3,5 % em 35 °C, de modo a fundir

completamente a temperatura do corpo (KARABULUT; TURAN; ERGIN, 2004). Sendo assim, todas as misturas PC NIE, PC IE e PE IE apresentam conteúdo de gordura sólida adequado.

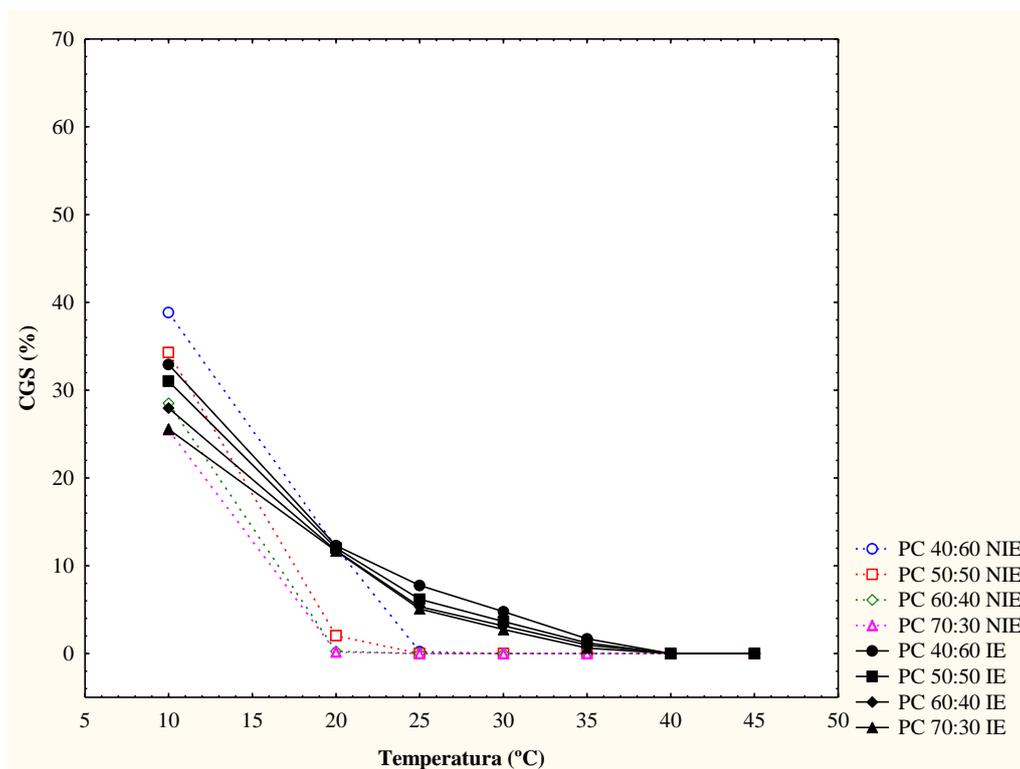
Nas Figuras 14, 15, 16 e 17 é apresentado o conteúdo de gordura sólida das misturas antes e após a interesterificação comparado ao perfil de sólidos de alguns tipos de margarinas da literatura (GUNSTONE; HARWOOD; DIJKSTRA, 2007).

As margarinas funcionais são caracterizadas por apresentarem baixos teores de ácidos graxos saturados e conseqüentemente reduzidas quantidade de gordura sólida. As margarinas do tipo “mesa” e “mesa macia” também possuem baixos teores de gordura sólida, porém superiores às do tipo funcional (GUNSTONE; HARWOOD; DIJKSTRA, 2007). As modificações causadas pela interesterificação enzimática tornaram o perfil de sólidos das misturas mais adequados para a elaboração de margarinas. O aumento na inclinação das curvas de sólidos das misturas PC, aproximou o perfil de sólidos destas ao das margarinas. Assim como, a redução do conteúdo de gordura sólida das misturas PE.

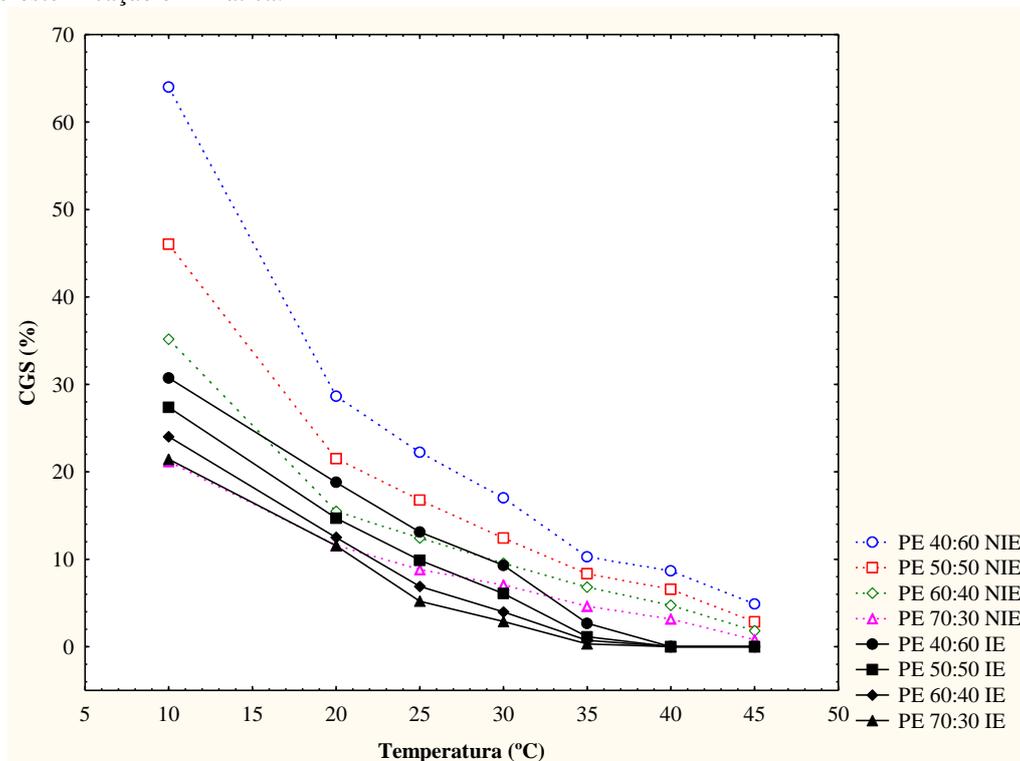
As misturas PC IE apresentaram perfis de sólidos similares aos das margarinas funcional e de mesa macia, exceto na temperatura de refrigeração (10 °C), cujos teores mais elevados em relação à esses tipos de margarinas podem resultar em margarinas mais duras e consistentes. A mistura PE 70:30 NIE apresentou comportamento similar aos das margarinas funcional e de mesa macia até a temperatura de 25 °C. A mistura PE 40:60 IE apresentou perfil de sólidos semelhante ao da margarina de mesa, e as demais misturas PE IE (50:50, 60:40 e 70:30) apresentaram perfis de sólidos semelhantes aos das margarinas funcional e de mesa macia.

Grimaldi, Gonçalves e Esteves (2000) determinaram as características de gorduras comerciais disponíveis no Brasil, produzidas a partir das principais matérias-primas oleaginosas disponíveis no mercado (óleo de soja, óleo de algodão, óleo de palma e palmiste). Dentre as 15 gorduras caracterizadas, três foram selecionadas e seus perfis de sólidos foram comparados aos das misturas estudadas no presente trabalho. As gorduras escolhidas foram: (A) gordura para aspensão em biscoitos, (B) gordura para uso geral na panificação/confeitaria (fabricação de biscoitos, pães e bolos) e (C) gordura para frituras. As Figuras 18, 19, 20 e 21 apresentam o conteúdo de gordura sólida das misturas antes e após a interesterificação enzimática comparado ao perfil de sólidos das gorduras comerciais. A mistura PC 40:60 NIE, todas as misturas PC IE e a mistura PE 70:30 IE apresentaram comportamento similar ao da gordura para aspensão. Foram similares ao perfil de sólidos apresentado pela gordura para uso geral em panificação/confeitaria as

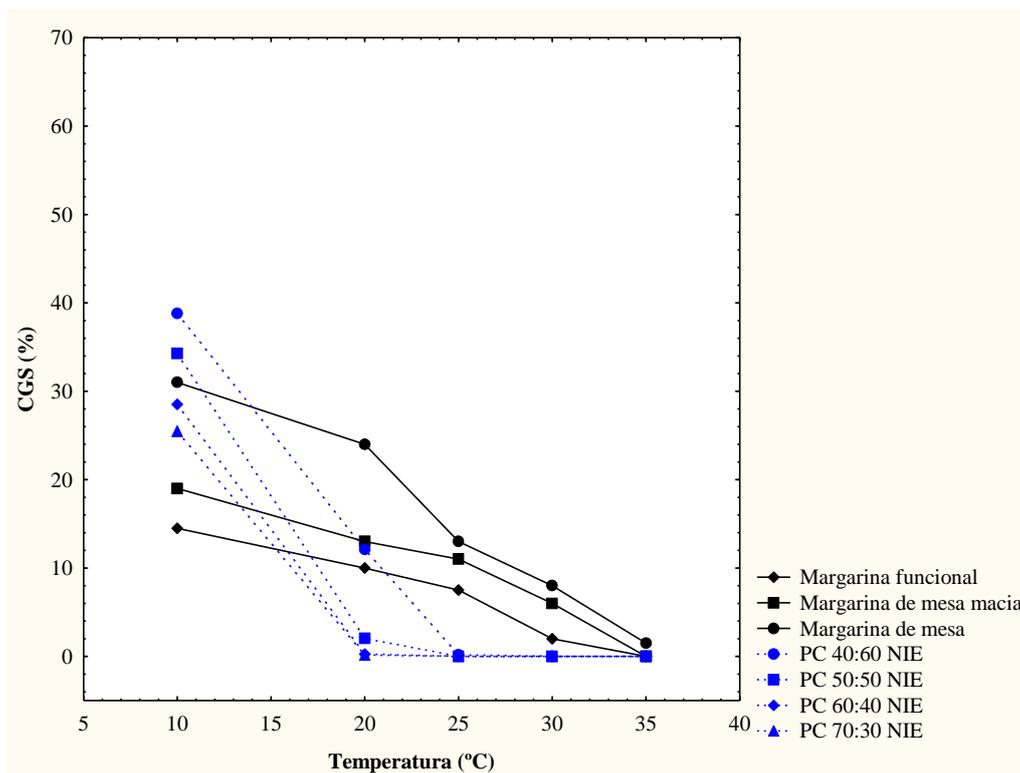
misturas: PE 60:40 NIE e PE 40:60 IE. E a mistura PE 50:50 NIE apresentou conteúdo de gordura sólida similar ao da gordura para frituras.



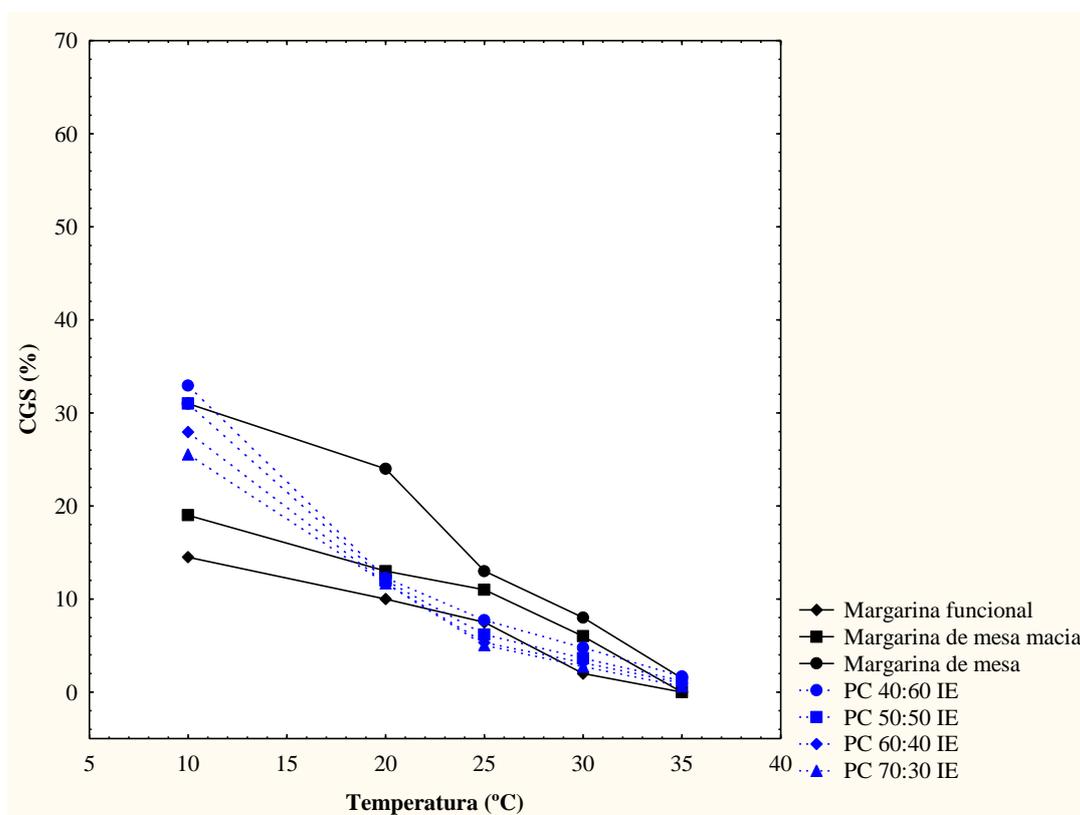
**Figura 12** - Conteúdo de gordura sólida das misturas de óleo de praxaxi e gordura de cupuaçu antes e após a interesterificação enzimática.



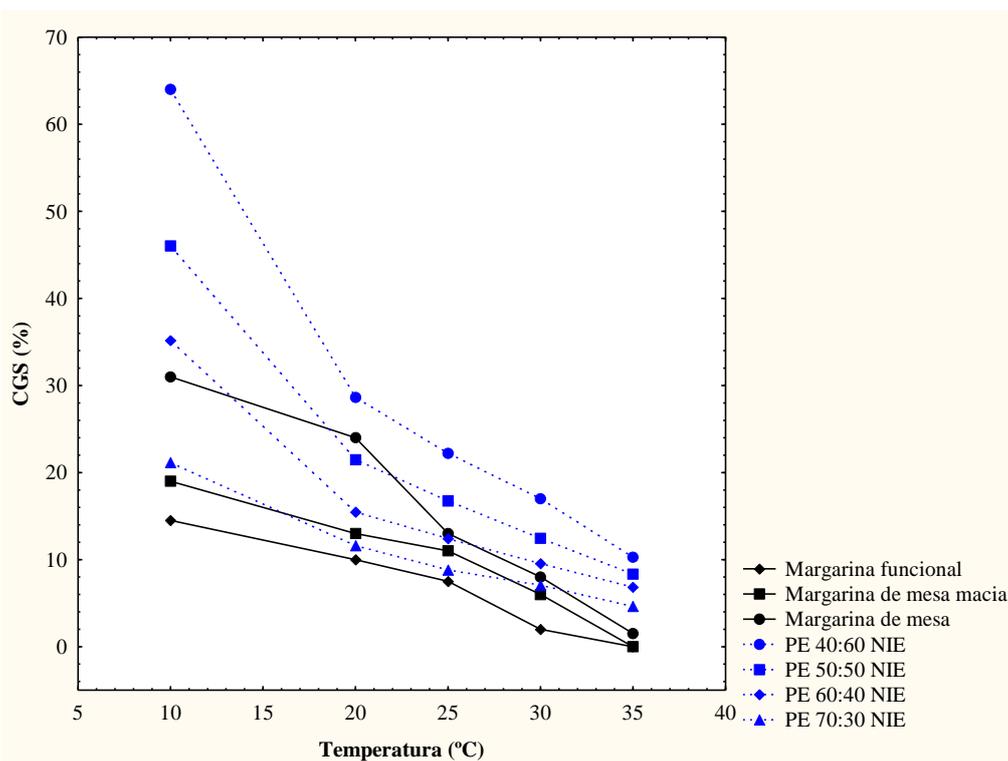
**Figura 13** - Conteúdo de gordura sólida das misturas de óleo de praxaxi e estearina de palma antes e após a interesterificação enzimática.



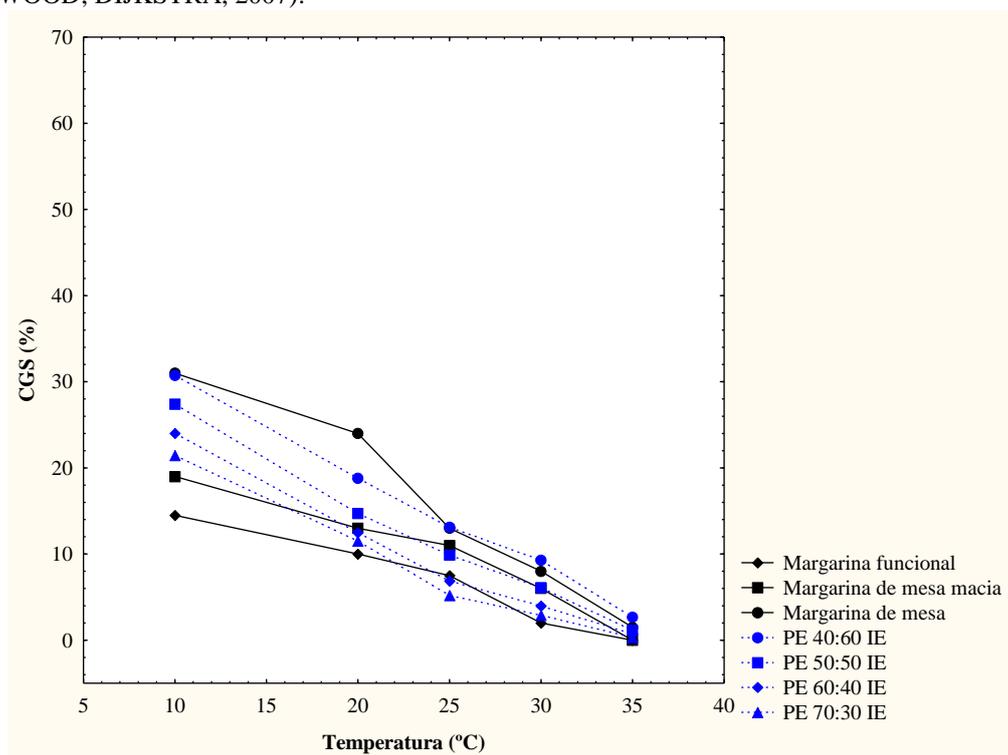
**Figura 14** - Conteúdo de gordura sólida das misturas pracaxi:cupuaçu antes da interesterificação enzimática em função da temperatura comparado ao perfil de alguns tipos de margarinas (GUNSTONE; HARWOOD; DIJKSTRA, 2007).



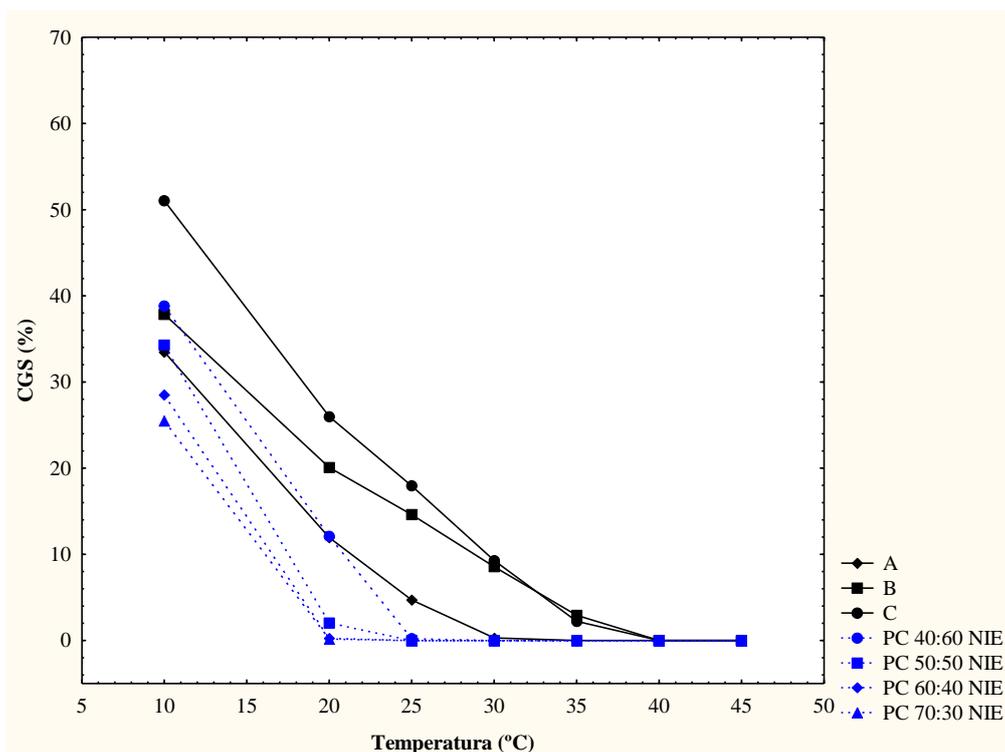
**Figura 15** - Conteúdo de gordura sólida das misturas pracaxi:cupuaçu após a interesterificação enzimática em função da temperatura comparado ao perfil de alguns tipos de margarinas (GUNSTONE; HARWOOD; DIJKSTRA, 2007).



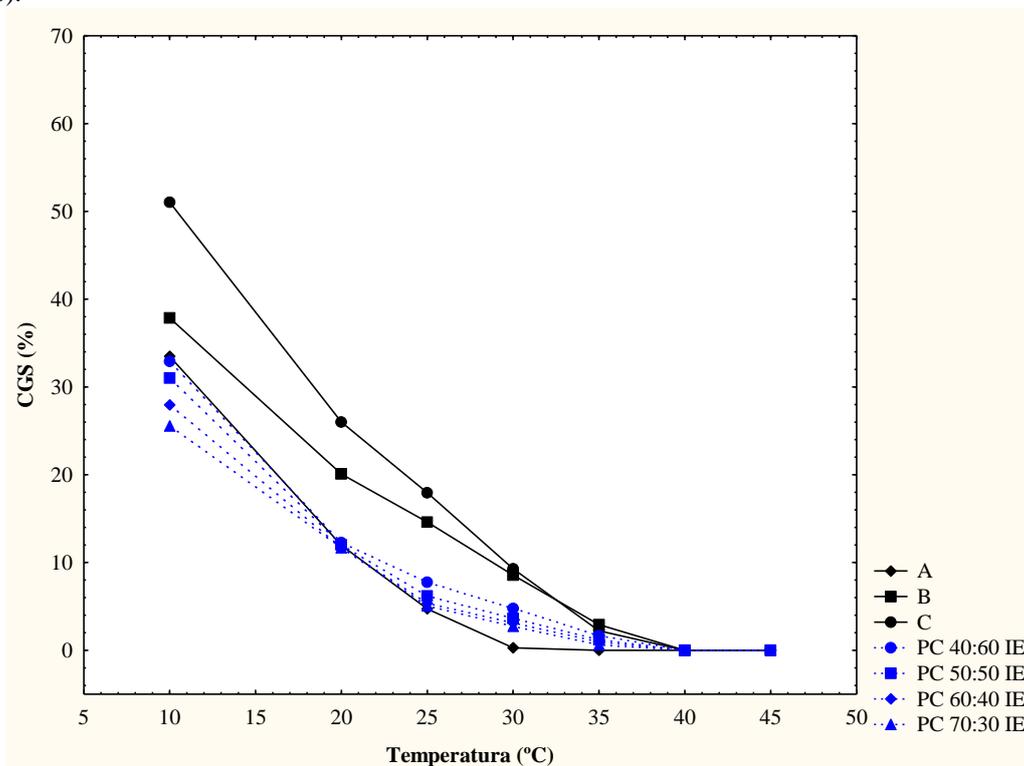
**Figura 16** - Conteúdo de gordura sólida das misturas pracaxi:estearina antes da interesterificação enzimática em função da temperatura comparado ao perfil de alguns tipos de margarinas (GUNSTONE; HARWOOD; DIJKSTRA, 2007).



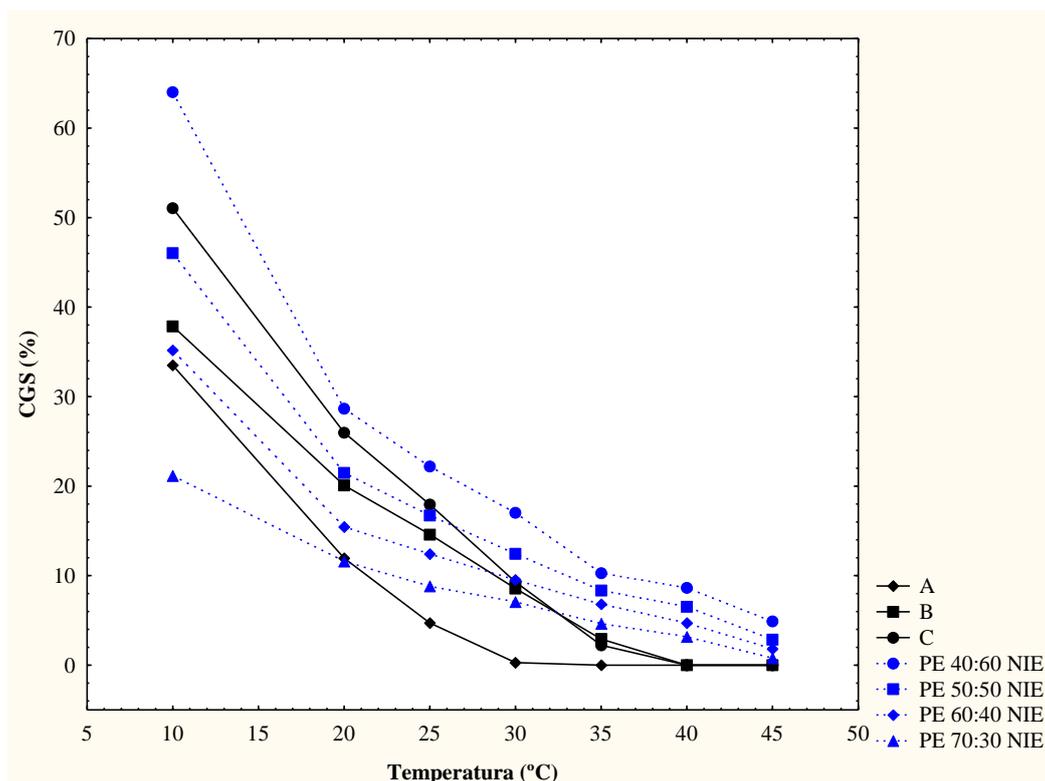
**Figura 17** - Conteúdo de gordura sólida das misturas pracaxi:estearina após a interesterificação enzimática em função da temperatura comparado ao perfil de alguns tipos de margarinas (GUNSTONE; HARWOOD; DIJKSTRA, 2007).



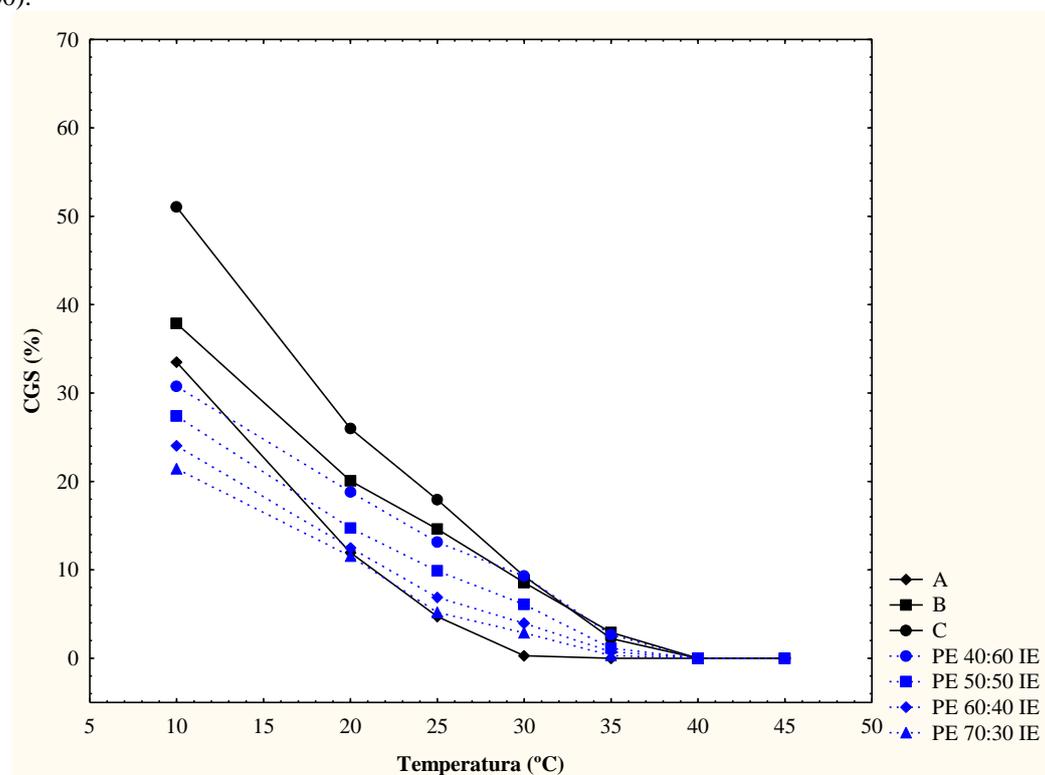
**Figura 18** - Conteúdo de gordura sólida das misturas pracaxi:cupuaçu antes da interesterificação enzimática em função da temperatura comparado ao perfil de sólidos de algumas gorduras comerciais: (A) aspersion em biscoitos; (B) uso geral (biscoitos, pães e bolos); (C) frituras (GRIMALDI; GONÇALVES; ESTEVES, 2000).



**Figura 19** - Conteúdo de gordura sólida das misturas pracaxi:cupuaçu após a interesterificação enzimática em função da temperatura comparado ao perfil de sólidos de algumas gorduras comerciais: (A) aspersion em biscoitos; (B) uso geral (biscoitos, pães e bolos); (C) frituras (GRIMALDI; GONÇALVES; ESTEVES, 2000).



**Figura 20** - Conteúdo de gordura sólida das misturas pracaxi:estearina antes interesterificação enzimática em função da temperatura comparado ao perfil de sólidos de algumas gorduras comerciais: (A) aspersão em biscoitos; (B) uso geral (biscoitos, pães e bolos); (C) frituras (GRIMALDI; GONÇALVES; ESTEVES, 2000).



**Figura 21** - Conteúdo de gordura sólida das misturas pracaxi:estearina após a interesterificação enzimática em função da temperatura comparado ao perfil de sólidos de algumas gorduras comerciais: (A) aspersão em biscoitos; (B) uso geral (biscoitos, pães e bolos); (C) frituras (GRIMALDI; GONÇALVES; ESTEVES, 2000).

**Tabela 11** - Conteúdo de gordura sólida das amostras puras e de suas misturas.

Amostra	Conteúdo de gordura sólida (%)						
	10 °C	20 °C	25 °C	30 °C	35 °C	40 °C	45 °C
PRA	12,51 ± 0,25	1,86 ± 0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
CUP	61,25 ± 0,03	38,51 ± 0,01	15,71 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,00	0,00	0,00
EST	77,55 ± 0,03	61,14 ± 0,02	49,55 ± 0,06	37,85 ± 0,04	26,26 ± 0,01	20,88 ± 0,13	13,87 ± 0,01
PC 40:60 NIE	38,82 ± 0,07	12,11 ± 0,02	0,20 ± 0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
PC 50:50 NIE	34,29 ± 0,01	2,02 ± 0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
PC 60:40 NIE	28,52 ± 0,02	0,26 ± 0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
PC 70:30 NIE	25,49 ± 0,22	0,16 ± 0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
PC 40:60 IE	32,93 ± 0,72	12,29 ± 0,07	7,75 ± 0,38	4,76 ± 0,16	1,68 ± 0,09	0,00	0,00
PC 50:50 IE	31,01 ± 0,43	12,01 ± 0,12	6,17 ± 0,03	3,65 ± 0,05	1,20 ± 0,07	0,00	0,00
PC 60:40 IE	27,96 ± 0,37	11,73 ± 0,12	5,33 ± 0,14	3,14 ± 0,01	0,96 ± 0,04	0,00	0,00
PC 70:30 IE	25,54 ± 0,37	11,68 ± 0,31	5,07 ± 0,08	2,74 ± 0,07	0,62 ± 0,02	0,00	0,00
PE 40:60 NIE	64,02 ± 0,01	28,65 ± 0,03	22,22 ± 0,03	17,01 ± 0,01	10,27 ± 0,03	8,66 ± 0,01	4,88 ± 0,01
PE 50:50 NIE	46,03 ± 0,04	21,50 ± 0,14	16,76 ± 0,08	12,45 ± 0,04	8,35 ± 0,44	6,55 ± 0,01	2,85 ± 0,02
PE 60:40 NIE	35,18 ± 0,01	15,47 ± 0,03	12,43 ± 0,02	9,54 ± 0,01	6,83 ± 0,01	4,73 ± 0,01	1,82 ± 0,01
PE 70:30 NIE	21,15 ± 0,03	11,61 ± 0,01	8,82 ± 0,01	7,06 ± 0,01	4,62 ± 0,01	3,17 ± 0,01	0,81 ± 0,15
PE 40:60 IE	30,74 ± 0,33	18,80 ± 0,12	13,12 ± 0,21	9,32 ± 0,35	2,68 ± 0,69	0,00	0,00
PE 50:50 IE	27,39 ± 0,34	14,71 ± 0,11	9,89 ± 0,21	6,08 ± 0,38	1,14 ± 0,31	0,00	0,00
PE 60:40 IE	24,03 ± 0,08	12,48 ± 0,20	6,90 ± 0,29	3,98 ± 0,01	0,74 ± 0,08	0,00	0,00
PE 70:30 IE	21,45 ± 1,42	11,54 ± 0,11	5,20 ± 0,33	2,89 ± 0,35	0,33 ± 0,08	0,00	0,00

Os valores representam média ± desvio padrão. PRA - óleo de pracaxi; CUP - gordura de cupuaçu; EST - estearina de palma; PC - pracaxi:cupuaçu; PE - pracaxi:estearina; NIE - amostra não-interesterificada; IE - amostra interesterificada.

### 5.2.9 Consistência

A Tabela 12 apresenta a consistência das misturas antes e após a interesterificação enzimática, calculada como “yield value” em gf/cm<sup>2</sup>, nas temperaturas de 5 °C e 10 °C.

**Tabela 12** - Consistência a 5 °C e 10 °C das misturas antes e após a interesterificação enzimática.

Misturas	Consistência (gf/cm <sup>2</sup> )			
	5 °C		10 °C	
	NIE	IE	NIE	IE
PC 40:60	9513,32 ± 20,76 <sup>c,A</sup>	5099,92 ± 21,50 <sup>d,B</sup>	4778,16 ± 52,64 <sup>c,C</sup>	3248,70 ± 32,62 <sup>d,D</sup>
PC 50:50	6814,72 ± 31,14 <sup>e,A</sup>	3668,82 ± 39,38 <sup>f,B</sup>	3660,91 ± 13,34 <sup>d,B</sup>	2046,19 ± 31,14 <sup>f,C</sup>
PC 60:40	4291,08 ± 34,74 <sup>f,A</sup>	2743,83 ± 15,73 <sup>g,B</sup>	2746,05 ± 19,28 <sup>f,B</sup>	1877,90 ± 12,60 <sup>g,C</sup>
PC 70:30	2921,02 ± 38,55 <sup>g,A</sup>	2453,95 ± 17,79 <sup>h,B</sup>	1824,52 ± 39,29 <sup>g,C</sup>	628,69 ± 78,19 <sup>h,D</sup>
PE 40:60	15003,94 ± 45,97 <sup>a,A</sup>	10196,13 ± 14,09 <sup>a,B</sup>	7261,52 ± 44,29 <sup>a,C</sup>	6087,43 ± 18,53 <sup>a,D</sup>
PE 50:50	13917,83 ± 18,53 <sup>b,A</sup>	8113,61 ± 22,24 <sup>b,B</sup>	6013,04 ± 40,26 <sup>b,C</sup>	5296,38 ± 11,86 <sup>b,D</sup>
PE 60:40	9600,80 ± 34,10 <sup>c,A</sup>	7209,87 ± 9,64 <sup>c,B</sup>	4758,14 ± 14,83 <sup>c,C</sup>	4056,06 ± 30,40 <sup>c,D</sup>
PE 70:30	8066,16 ± 50,41 <sup>d,A</sup>	4952,38 ± 25,21 <sup>e,B</sup>	3325,31 ± 45,30 <sup>e,C</sup>	3007,76 ± 33,36 <sup>e,D</sup>

Os valores representam média ± desvio padrão. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística significativa entre as amostras ( $p \leq 0,05$ ). Letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença estatística significativa entre as amostras ( $p \leq 0,05$ ). PC - pracaxi:cupuaçu; PE - pracaxi:estearina; NIE - amostra não interesterificada; IE - amostra interesterificada.

Os resultados mostraram que a adição de óleo de pracaxi à gordura de cupuaçu e à estearina de palma provocou a diminuição na consistência de todas as misturas, pelo fato de ser um óleo líquido e assim provocar a diluição da rede cristalina das gorduras. A consistência das misturas também foi reduzida com o aumento de temperatura de 5 °C para 10 °C, com reduções na consistência superiores a 36 % para as misturas PC e com reduções superiores a 50 % para as misturas PE. Esse decréscimo ocorre, pois o aumento de temperatura provoca a fusão gradual dos cristais, levando a uma rede estruturalmente mais fraca, que é, por sua vez, responsável pela plasticidade das gorduras (ROUSSEAU; HILL; MARANGONI, 1996; CHIU; GIOIELLI, 2002).

De acordo com Chiu e Gioielli (2002), a consistência de gorduras é influenciada pelo conteúdo de gordura sólida do material e é observada uma relação sempre direta, ou seja, quanto maior for o teor de sólido do material maior será sua consistência, apesar de ser sempre direta não necessariamente será linear; tais considerações estão de acordo com os resultados observados no presente trabalho. Comparando-se o CGS a 10 °C com a consistência das misturas antes e após a interesterificação foi observado que, assim como ocorreu para o CGS, também foi observada a redução do conteúdo de CGS de todas as misturas após a interesterificação enzimática na temperatura de 10 °C.

Após a interesterificação enzimática ocorreu a redução significativa da consistência de todas as misturas, nas temperaturas analisadas.

As gorduras podem ser classificadas quanto à sua espalhabilidade em função de seu “yield value” ou consistência, de acordo com os critérios estabelecidos por Haighton (1959). Uma gordura pode ser considerada espalhável na faixa entre 100 e 1000 gf/cm<sup>2</sup>, porém produtos com “yield value” na faixa de 200 a 800 gf/cm<sup>2</sup> são os mais satisfatórios do ponto de vista da espalhabilidade, pois, caracterizam-se como gorduras plásticas e espalháveis.

Comparando-se os resultados obtidos para as misturas antes e após a interesterificação com a proposta de avaliação de Haighton (1959), todas as amostras, exceto a PC 70:30 IE a 10 °C, podem ser classificadas como “muito duras” na temperatura de refrigeração. Apenas a mistura PC 70:30 após a interesterificação enzimática apresentou consistência dentro da faixa de 200 a 800 gf/cm<sup>2</sup>, com satisfatórias propriedades de plasticidade e espalhabilidade para uso em temperaturas de refrigeração, de acordo com o critério estabelecido por Haighton (1959).

Grimaldi et al. (2001) aplicaram a interesterificação química em misturas binárias formadas por óleo de palma e estearina de palma em diferentes proporções (80:20; 60:40;

50:50; 40:60 e 20:80) e também obtiveram valores de consistência altos, na faixa de 8522,9 a 13780,7 gf/cm<sup>2</sup>. Sendo que, a consistência das misturas analisadas diminuiu com a adição de óleo de palma e também com o aumento de temperatura. Após a interesterificação química, estes autores observaram a redução da consistência de todas as misturas. Sendo que, a temperatura de 10 °C, todas as misturas apresentaram consistência acima de 1500 gf/cm<sup>2</sup>, sendo classificadas como muito duras.

## 6 CONCLUSÃO

A reação de interesterificação catalisada pela Lipozyme TL IM (*Thermomyces lanuginosus*) mostrou-se eficaz para a alteração das características físico-químicas das misturas binárias, ampliando as possibilidades de aplicação na indústria de alimentos.

A interesterificação enzimática provocou o aumento do ponto de fusão para as misturas PC e a redução para as misturas PE. Ambas alterações foram positivas para a aplicação destas misturas na formulação de gorduras comerciais, como margarinas e *shortenings*.

A adição do óleo de pracaxi às misturas apresentou benefícios nutricionais para as misturas por possuir elevada concentração de ácido oleico, linoleico e beênico. Sendo este último considerado como componente funcional em gorduras de baixo valor calórico e raramente encontrado em outros óleos vegetais. Enquanto que, as gorduras apresentaram boa estabilidade oxidativa e contribuíram para o perfil de gordura sólida das misturas.

Os principais ácidos graxos presentes nas misturas de óleo de pracaxi e gordura de cupuaçu foram o ácido oleico, esteárico e linoleico. E nas misturas de óleo de pracaxi e estearina de palma foram o ácido oleico, palmítico e linoleico.

A interesterificação diminuiu a consistência das misturas nas duas temperaturas analisadas 5 e 10°C. Apenas a mistura PC 70:30 IE a 10°C apresentou consistência “plástica e espalhável”.

Assim como observado para o ponto de fusão, ocorreu o aumento na curva de conteúdo de gordura sólida para as misturas PC e a redução para as misturas PE após a interesterificação enzimática. Tais modificações estão relacionadas ao rearranjo dos ácidos graxos na estrutura dos triacilgliceróis, e permitiram a obtenção de perfis de fusão mais adequados para que tais misturas sejam aplicadas na elaboração de margarinas. E além disso, as misturas binárias entre o óleo de pracaxi e as gorduras de cupuaçu e estearina de palma, mostraram-se adequadas para serem aplicadas na formulação de gorduras comerciais, como a gordura para confeitaria/panificação e gordura para frituras.

Portanto, a interesterificação enzimática mostrou-se adequada para a alteração das propriedades das misturas binárias e ampliação das possibilidades de aplicação na indústria alimentícia.

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

ADEWUYI, A.; PRASAD, R. B. N.; RAO, B. V. S. K.; ODERINDE, R. A. Oil composition, mineral nutrient and fatty acid distribution in the lipid classes of underutilized oils of *Trilepisium madagascariense* and *Antiaris africana* from Nigeria. **Food Research International**, v. 43, n. 3, p. 665-670, 2010.

ADHIKARI, P.; SHIN, J. A.; LEE, J. H.; KIM, H. R.; KIM, I. H.; HONG, S. T.; LEE, K. T. Crystallization, physicochemical properties, and oxidative stability of the interesterified hard fat from rice bran oil, fully hydrogenated soybean oil, and coconut oil through lipase-catalyzed reaction. **Food and Bioprocess Technology**, v. 5, p. 2474-2487, 2012.

ADHIKARI<sup>a</sup>, P.; SHIN, J. A.; LEE, J. H.; HU, J. N.; ZHU, X. M.; AKOH, C. C.; LEE, K. T. Production of trans-free margarine stock by enzymatic interesterification of rice bran oil, palm stearin and coconut oil. **Journal of the Science Food and Agriculture**, v. 90, p. 703-711, 2010.

ADHIKARI<sup>b</sup>, P.; ZHU, X. M.; GAUTAM, A.; SHIN, J. A.; HU, J. N.; LEE, J. H.; AKOH, C. C.; LEE, K. T. Scale-up production of zero-trans margarine fat using pine nut oil and palm stearin. **Food Chemistry**, v. 119, p. 1332-1338, 2010.

AKOH, C. C.; KIM, B. H. **Structured Lipids In: Food Lipids: Chemistry, Nutrition and Biotechnology** (Ed. Akoh CC, Min DB). New York: CRC Press, p. 841, 3rd. edition, 2008.

ALVIÁREZ, G. E.; MURILLO, A. W.; MURILLO, P. E.; ROJANO, B. A.; MÉNDEZ, A. J. J. Caracterización y extracción lipídica de las semillas del cacao amazónico (*Theobroma grandiflorum*). **Ciencia en Desarrollo**, v. 7, p. 103-109, 2016.

ANON, 2015. **Software on-line PrÓleos**. Disponível em: <http://lames.quimica.ufg.br/p/4035-material-didatico>. Acesso em: 20 de setembro de 2017.

ANTONIASSI, R. Métodos de avaliação da estabilidade oxidativa de óleos e gorduras. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, v.19, p.353-380, 2001.

ANTONIOSI FILHO, N. R.; MENDES, O. L.; LANÇAS, F. M. Computer prediction of triacylglycerol composition of vegetable oils by HRGC. **Chromatographia**, v. 40, p. 557-562, 1995.

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

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

ARAGÃO, V. C.; ANSCHAU, A.; PORCIUNCULA, B. D. A.; THIESEN, C.; KALIL, S. J.; BURKERT, C. A. V.; BURKERT, J. F. M. Enzymatic synthesis isoamyl butyrate employing commercial microbial lipases. **Química Nova**, v. 32, p. 2268-2272, 2009.

ASCHERIO, A; WILLETTE, W.C. New directions in dietary studies of coronary heart Disease. **Journal of Nutrition**, v.125, p. 647-655, 1995.

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

BANOV, D.; BANOV, F. BASSANI, A. S. Case Series: The Effectiveness of Fatty Acids from Pracaxi Oil in a Topical Silicone Base for Scar and Wound Therapy. **Dermatology and Therapy**, v. 4, p. 259-269, 2014.

BENTES, A. S.; SOUZA, H. A. L.; SIMÕES, M. G.; MENDONÇA, X. M. F. D. Caracterização física e química e perfil lipídico de três espécies de peixes amazônicos. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 03, p. 97-108, 2009.

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

BRASIL. **Resolução RDC nº 270 de 22 de setembro de 2005**. Regulamento técnico para óleos vegetais, gorduras vegetais e creme vegetal. Órgão emissor: ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em: [http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/RDC\\_270\\_2005.pdf/c27660a1-b6ac-4a38-aadc-956929c80b7b](http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/RDC_270_2005.pdf/c27660a1-b6ac-4a38-aadc-956929c80b7b). Acesso em: 02 de julho de 2017.

CAHOON, E.B.; M. SCHIMID, K.M. Metabolic Engineering of the Content and Fatty Acid Composition of Vegetable Oils. **Advances in Plant Biochemistry and Molecular Biology**, v. 1, p. 161-200, 2008.

CARVALHO, A. V.; GARCIA, N. H. P.; FARFÁN, J. A. Proteínas da semente de cupuaçu e alterações devidas à fermentação e à torração. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, p. 986-993, 2008.

CECCHI, H.M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**, 2 ed. rev. Campinas: Editora da Unicamp, 2003.

CHIU, M.C; GIOIELLI, L.A. Conteúdo de gordura sólida da gordura abdominal de frango, de suas estearinas e de suas misturas binárias com toucinho. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 22, p. 151-157, 2002.

CHIU, M. C.; GIOIELLI, L. A.; GRIMALDI, R. Lipídios estruturados obtidos a partir da mistura de gordura de frango, sua estearina e triacilgliceróis de cadeia média. II- pontos de amolecimento e fusão. **Química Nova**, v. 31, p. 238-234, 2008.

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

- CHU, B.S; GHAZALI, H.M.; LAI, O.M.; CHE MAN, Y.B.; YUSOF, S.; YUSOFF, M. S. A. Performance of a lipase- catalyzed transesterified palm kernel olein and palm stearin blend in frying banana chips. **Food Chemistry**, v. 74, p. 21-33, 2001.
- CLEMENT, C. R.; LLERAS, P. E.; VAN, L. J. O potencial das palmeiras tropicais no Brasil: acertos e fracassos das últimas décadas. **Agrociências**, v. 9, p. 67-71, 2005.
- COHEN, K. O.; JACKIX, M. N. H. Estudo do liquor de cupuaçu. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, p. 182-190, 2005.
- COLLA, L. M.; REINEHR, C. O.; COSTA, J. A. V. Aplicações e produção de lipases microbianas. **Revista CIATEC - UPF**, v. 4, p. 1-14, 2012.
- COSTA, M. N. F. S.; MUNIZ, M. A. P.; NEGRAO, C. A. B.; COSTA, C. E. F.; LAMARAO, M. L. N.; MORAIS, L.; JUNIOR, J. O. C. S.; COSTA, R. M. R. C. Characterization of *Pentaclethra macroloba* oil: Thermal stability, gas chromatography and Rancimat. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 115, p. 2269-2275, 2014.
- COSTALES, R.; FERNANDEZ, A. **Hidrogenación y Interesterificación**. In: Temas selectos en aceites y grasas. Ed. BLOCK, J.M.; BARRERA-ARELLANO, D. Ed. Edgard Blucher, São Paulo, p. 299-344, 2009.
- CRESPI, B.; GUERRA, G. A. D. Ocorrência, coleta, processamento primário e usos do pracaxi (*Pentaclethra macroloba* (Willd.) Kuntze) na Ilha de Cotijuba, Belém-PA. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 8, p. 176-189, 2013.
- CRIADO, M.; HERNANDEZ-MARTÍN, E.; LÓPEZ-HERNÁNDEZ, A.; OTERO, C. Enzymatic interesterification of extra virgin olive oil with a fully hydrogenated fat: Characterization of the reaction and its products. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 84, p. 717-726, 2007.
- D'AGOSTINI, D.; FERRAZ, R. C.; GIOIELLI, L. A. Consistência de misturas binárias e ternárias de gorduras de palma, palmiste e triacilgliceróis de cadeia média. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 36, 147-155, 2000.
- D'AGOSTINI, D.; GIOIELLI, L. A. Distribuição estereoespecífica de lipídios estruturados a partir de gorduras de palma, palmiste e triacilgliceróis de cadeia média. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 38, p. 345-354, 2002.
- DIAN, N. L. H. M.; SUNDRAM, K.; IDRIS, N. A. Effect of chemical interesterification on triacylglycerol and solid fat contents of palm stearin, sunflower oil and palm kernel olein blends. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 109, p. 147-156, 2007.
- DINÇ, S.; JAVIDIPOUR, I.; OZBAZ, O.O.; TEKIN, A. Utilization of zero-trans non-interesterified and interesterified shortenings in cookie production. **Journal Food Science Technology**, v. 51, p. 365-370, 2011.

DOGAN, I. S.; JAVIDIPOUR, I.; AKAN, T. Effects of interesterified palm and cottonseed oil blends on cake quality. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 42, p. 157-164, 2007.

FENNEMA, O. R.; DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L. **Química de Alimentos de Fennema**. 4ª ed. Editora: Artmed, 2010.

FREGOLENTE, P. B. L. **Obtenção de monoacilglicerol de alta concentração através de glicerólise enzimática e destilação molecular**. Tese (Doutorado em Engenharia Química). Universidade Estadual de Campinas, 2010.

GALVÃO, V. **Óleo benéficos**, 2012. Disponível em: <https://www.oleobeneficios.com.br/oleo-pracaxi-beneficios-propriedades/>. Acesso em: 29 de novembro de 2016.

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

GIOIELLI, L.A.; PITOMBO, R. N. M.; VITOLO, M.; BARUFFALDI, R.; OLIVEIRA, M.N.; AUGUSTO, M. S. Acidolysis of babassu fat catalyzed by immobilized lipase. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v.71, p. 579-582, 1994.

GOH, E.M. Formulation of lauric oil-containing food products and their performance. In: **Proceedings of the World Conference on Lauric Oils: Sources, Processing and Applications**, p. 98-103, 1994.

GRAILLE, J. Providing biocatalysts through customizing lipases by diferente processes. **Oleagineux Corps Gras Lipides**, v.6, p.365-372, 1999.

GRIMALDI, R.; GONÇALVES, L. A. G.; ESTEVES, W. Characteristics of Brazilian Shortenings. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 3, p. 159-164, 2000.

GRIMALDI, R.; GONÇALVES, L. A. G.; GIOIELLI, L. A.; SIMÕES, I. S. Interactions in interesterified palm and palm kernel oils mixtures. I – Solid fat content and consistency. **Grasas y Aceites**, v. 52, p. 349-354, 2001.

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

GUNSTONE, F. D.; HARWOOD, J. L.; DIJKSTRA, A. J. **The lipid handbook**, 3 th ed, p. 791, CRC Press, 2007.

HAIGHTON, A. J. The measurement of the hardness of margarine and fat with con penetrometers. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 36, p. 345-348, 1959.

HASAN, F.; SHAH, A. A.; HAMEED, A. Industrial applications of microbial lipases. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 39, p. 235-251, 2006.

HAUMANN, B. F. Tools: hydrogenation, interesterification. **Inform.** v.5, p. 668-678, 1994.

HOLM, H. C.; COWAN, D. The evolution of enzymatic interesterification in the oils and fats industry. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 110, p. 679-691, 2008.

HOUDE, A.; KADEMI, A.; LEBLANC, D. Lipases and their industrial applications: an overview. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 118, p. 155-170, 2004.

HUI, Y. H. Shortening: Science and Technology. **Bailey's industrial oil and fat products**. 5th edition. New York: John Wiley and Sons, v.1, cap.3, p.115-160, 1996.

IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). **Mapa de biomas e de vegetação**, 2004. Disponível em: <https://ww2.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/21052004biomashtml.shtm>. Acesso em: 22 de outubro de 2016.

JARDINE, J. G.; BARROS, T. D.; COLLARES, D. **Árvore do conhecimento – Agroenergia**. Agência Embrapa de Informação Tecnológica, 2016. Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/agroenergia/arvore/CONT000fbl23vmz02wx5eo0sawqe3valo63n.html>.

KAPPOR, M.; GUPTA, M. N. Lipase promiscuity and its biochemical applications. **Process Biochemistry**, v. 47, p. 555-569, 2012.

KARABULUT, A. I.; TURAN, S. Some properties of margarines and shortenings marketed in Turkey. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, p. 55-58, 2006.

KARABULUT, I.; TURAN, S.; ERGIN, G. Effects of chemical interesterification on solid fat content and slip melting point of fat/oil blends. **European Food Research and Technology**, v. 218, p. 224-229, 2004.

KOJIMA, M.; TACHIBANA, N.; YAMAHIRA, T.; SEINO, S.; IZUMISAWA, A.; SAGI, N.; ARISHIMA, T.; KOHNO, M.; TAKAMATSU, K.; HIROTSUKA, M.; IKEDA, I. Structured triacylglycerol containing behenic and oleic acids suppresses triacylglycerol absorption and prevents obesity in rats. **Lipids in Health Disease**, v. 9, p. 1-6, 2010.

KOSTECKA, M.; KOWALSKA, D.; KOZŁOWSKA, M.; KOWALSKI, B. Properties and oxidative stabilities of enzymatically interesterified chicken fat and sunflower oil blend. **Journal of Oleo Science**, v. 62, p. 893-900, 2013.

KOVAC, A.; SCHEIB, H.; PLEISS, J.; SCHMID, R. D.; PALTAUF, F. Molecular basis of lipase stereoselectivity. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 102, p. 61-67, 2000.

LAI, O. M.; GHAZALIA, H. M.; CHO, F.; CHONG, C.L. Physical and textural properties of an experimental table margarine prepared from lipase-catalysed

transesterified palm stearin:palm kernel olein mixture during storage. **Food Chemistry**, v. 71, p. 173-179, 2000.

LEAL, I. C. R.; JUNIOR, I. I.; PEREIRA, E. M.; LAPORT, M. S.; KUSTER, R. M.; SANTOS, K. R. N. *Pentaclethra macroloba* tannins fractions active against methicillin-resistant staphylococcal and gram negative strains showing selective toxicity. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 21, p. 991-999, 2011.

LEE, J. H.; AKOH, C. C.; LEE, K. T. Physical properties of trans-free bakery shortening produced by lipase-catalyzed interesterification. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 85, p. 1-11, 2008.

LIDA, H. M. D.N.; SUNDRAM, K.; SIEW, W. L.; AMINAH, A.; MAMOT, S. TAG composition and solid fat content of palm oil, sunflower oil, and palm kernel olein blends before and after chemical interesterification. **Journal of American Oil Chemists' Society**, v. 79, p. 1137-1144, 2002.

LIMA, R. P.; LUZ, P. T. S.; BRAGA, M.; BATISTA, P. R. S.; COSTA, C. E. F.; ZAMIAN, J. R.; NASCIMENTO, L. A. S.; FILHO, G. N. R. Murumuru (*Astrocaryum murumuru* Mart.) butter and oils of buriti (*Mauritia flexuosa* Mart.) and pracaxi (*Pentaclethra macroloba* (Willd.) Kuntze) can be used for biodiesel production: Physico-chemical properties and thermal and kinetic studies. **Industrial Crops and Products**, v. 97, p. 536-544, 2017.

LIMA, U. A. **Biotecnologia industrial - Processes fermentativos e enzimático**. 1ª ed., Editora Blucher: São Paulo, 2001.

LISBOA, P. L. B.; GOMES, I. A. G.; LISBOA, R. C. L.; URBINATI, C. V. **O estilo amazônico de sobreviver: manejo dos recursos naturais**. In: Natureza, homem e manejo de recursos naturais na região de Caxiuanã (Org. LISBOA, P. L. B.). Melgaço: Pará, 237 p. Belém, 2002.

LONG, K.; ZUBIR, I.; HUSSIN, A. B.; IDRIS, N.; GHAZALI, H. M.; LAI, O.M. Effect of enzymatic transesterification with flaxseed oil on the high-melting glycerides of palm stearin and palm olein. **Journal of American Oil Chemists' Society**, v. 80, p. 133-137, 2003.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil**. v. 2, 2ª ed., Editora Instituto Plantarum. São Paulo, 2002.

MAISTRO, E. L.; MARQUES, E. S.; TSUBOY, M. S. F. Cytotoxic and genotoxic assessment of *Euterpe oleracea* fruit oil and *Pentaclethra macroloba* oil in human peripheral lymphocytes. **Toxicology Letters**, v. 221, p. 126, 2003.

MARANGONI, A. G. **Lipases: Structure, Function and Properties**. In: Lipid Biotechnology (Ed. KUO, T. M., GARDNER, H. W.), Marcel Dekker: New York, 2002.

MARTIN, C. A.; ALMEIDA, V. V.; RUIZ, M. R.; VISENTAINER, J. E. L.; MATSHUSHITA, M.; SOUZA, N. E.; VISENTAINER, J. V. Omega-3 and omega-6

polyunsaturated fatty acids: importance and occurrence in foods. **Revista Nutrição**, v. 19, p. 761-770, 2006.

MARTIN, C. A.; CARAPELL, R.; VISANTAINER, J. V.; MATSUSHITA, M. SOUZA, N. E. Trans fatty acid content of Brazilian biscuits. **Food Chemistry**, v. 93, p. 445-448, 2005.

MICHELIN, S.; PENHA, F. M.; SYCHOSKI, M. M.; SCHERER, R. P.; TREICHEL, H.; VALÉRIO, A.; DILUCCIO, M.; OLIVEIRA, D.; OLIVEIRA, J. V. Kinetics of ultrasound-assisted enzymatic biodiesel production from macauba coconut oil. **Renew Energy**, v. 76, p. 388-393, 2015.

MING, L. O.; GHAZALI, H. M.; LET, C. C. Use of enzymatic transesterified palm stearin-sunflower oil blends in the preparation of table margarine formulation. **Food Chemistry**, v. 64, p. 83-88, 1999.

NAGARAJAN, S. New tools for exploring “old friends – microbial lipases”. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 168, p. 1163-1196, 2012.

NAGARAJU, A.; LOKESH, B. R. Interesterified coconut oil blends with groundnut oil or olive oil exhibit greater hypocholesterolemic effects compared with their respective physical blends in rats. **Nutrition Research**, v. 27, p. 580-586, 2007.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. Artmed: Porto Alegre, 2011.

NOORI, N.; DUKKIPATI, R.; KOVESDY, C.P.; SIM, J. J.; FERROZE, U.; MURALI, S.B.; BROSS, R.; BENNER, D.; KOPPLE, J. D.; KALANTAR-ZADEH, K. Dietary omega-3 fatty acid, ratio of omega-6 to omega-3 intake, inflammation, and survival in long-term hemodialysis patients. **American Journal of Kidney Diseases**, v. 58, p. 248-256, 2011.

O'BRIEN, R. D. **Fats And Oils - Formulating and processing for applications**; 2 ed., Flórida, Ed. CRC Press LLC, 2004.

OLIVEIRA, P. D.; RODRIGUES, A. M. C.; BEZERRA, C. V.; SILVA, L. H. Chemical interesterification of blends with palm stearin and patawa oil. **Food Chemistry**, v. 215, p. 369-376, 2017.

OSÓRIO, N. M.; DUBREUCQ, E.; FONSECA, M. M. R.; FERREIRA-DIAS, S. Operational stability of immobilised lipase/acyltransferase during interesterification of fat blends. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 111, p. 358-367, 2009.

OSÓRIO, N. M.; FERREIRA-DIAS, S.; GUSMÃO, J. H.; FONSECA, M. M. R. Response surface modelling of the production of  $\omega$ -3 polyunsaturated fatty acids-enriched fats by a comercial immobilized lipase. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 11, p. 677-686, 2001.

PANDEY, A.; SELVAKUMAR, P.; SOCCOL, C. R.; NIGAM, P. Solid state fermentation for the production of industrial enzymes. **Current Science**, v. 77, p. 149-162, 1999.

PAULA, A. V.; NUNES, G. F.; OSÓRIO, N. M.; SANTOS, J. C.; CASTRO, H. F.; FERREIRA-DIAS, S. Continuous enzymatic interesterification of milkfat with soybean oil produces a highly spreadable product rich in polyunsaturated fatty acids. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 116, p. 608-619, 2015.

PESCE, C. **Oleaginosas da Amazônia**. 2ª ed., rev. E atual. Belém: Museu Paraense Emílio Goeldi; Brasília: Ministério do Desenvolvimento Agrário, 2009.

PETRAUSKAITE, V.; DE GREYT, W.; KEKKENS, M.; HUIGHEBAERT, A. Physical and chemical properties of trans free fats produced by chemical interesterification of vegetable oil blends. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v.5, p. 489-493, 1999.

PINHEIRO, T. L. F.; LIPKE, N. R.; KEMPKA, A. P.; MENONCIN, S.; OLIVEIRA, D.; TREICHEL, H.; LUCCIO, M.; FREIRE, D. M. G. Response surface method to optimize the production and characterization of lipase from *Penicillium verrucosum* in solid state fermentation. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 31, p. 119-125, 2008.

PUGLIESE, A. G. **Compostos fenólicos do cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) e do cupulate: Composição e possíveis benefícios**. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade de São Paulo. São Paulo, 2010.

QUAST, L. B.; LUCCAS, V.; KIECKBUSCH, T. B. Physical properties of pre-crystallized mixtures of cocoa butter and cupuassu fat. **Grasas y Aceites**, v. 62, p. 62-67, 2011.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia Vegetal**, 7ª ed. Editora Guanabara Koogan. Rio de Janeiro, 2007.

REINEHR, C. O. **Produção de lipases de *Aspergillus* spp. por fermentação em estado sólido seguida de separação e concentração utilizando membranas**. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões. Erechim, 2015.

RIBEIRO, A. P. B.; MASUCHI, M. H.; GRIMALDI, R.; GONÇALVES, L. A. G. Chemical interesterification of soybean oil and fully hydrogenated soybean oil: Influence of the reaction time. **Química Nova**, v. 32, p. 939-945, 2009.

RIBEIRO, A. P. B.; MOURA, J. M. L. N.; GRIMALDI, R.; GONÇALVES, L. A. G. Interesterificação química: alternativa para obtenção de gorduras zero trans. **Química Nova**, v. 30, p. 1295-1300, 2007.

RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G. **Química de Alimentos**. 2ª ed. São Paulo: Edgard. Blucher: 2007.

RIBEIRO, M. D. M. M.; MING, C. C.; LOPES, T. I. B.; GRIMALDI, R.; MARSAIOLI, A. J.; GONÇALVES, L. A. G. Synthesis of structured lipids containing behenic acid from fully hydrogenated *Crambe abyssinica* oil by enzymatic interesterification. **Journal of Food Science and Technology**, v. 54, p. 1146-1157, 2017.

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

RODRIGUES, J. N.; GIOIELLI, L. A.; ANTON, C. Propriedades físicas de lipídios estruturados obtidos de misturas de gordura do leite e óleo de milho. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, p. 226-233, 2003.

ROUSSEAU, D.; HILL, A. R.; MARANGONI, A. G. Restructuring butterfat through blending and chemical interesterification. 3. Rheology. **Journal of American Oil Chemists' Society**, v. 73, p. 983-989, 1996.

ROZENAAL, A. Interesterification of oils and fats. **Inform**, v. 3, p. 1232-1237, 1992.

SABARENSE, C. M. **Avaliação do efeito do ácidos graxos trans sobre o perfil dos lipídios teciduais de ratos que consumiram diferentes teores de ácidos graxos essenciais**. Tese (Doutorado). Universidade de São Paulo, 2003.

SANTIAGO, G. M. P.; VIANA, F. A.; PESSOA, O. D. L.; SANTOS, R. P.; POULIQUEN, Y. B. M.; ARRIAGA, A. M. C.; ANDRADE-NETO, M.; BRAZ-FILHO, R. Avaliação da atividade larvicida de saponinas triterpênicas isoladas de *Pentaclethra macroloba* (Willd.) Kuntze (Fabaceae) e *Cordia piauhiensis* Fresen (Boraginaceae) sobre *Aedes aegypti*. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 3, p. 187-190, 2005.

SANTOS-SILVA, J.; BESSA, R. J. B.; MENDES, I. A. The effect of genotype, feeding system and slaughter weight on the quality of light lamb. II Fatty acid composition of meat. **Livestock Science**, v. 77, p. 187-194, 2002.

SARAIVA, S. A. **Caracterização de Matérias-Primas e Produtos Derivados de Origem Graxa por Espectrometria de Massas**. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Estadual de Campinas, 2008.

SCRIMGEOUR, C. **Chemistry of fatty acids**. In: SHAHIDI, F. (Ed) *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*, 6<sup>o</sup> Edition, v 1, Chap. 1, 2005.

SELLAMI, M.; GHAMGUI, H.; FRIKHA, F.; GARGOURI, Y.; MILED, N. Enzymatic transesterification of palm stearin and olein blends to produce zero-trans margarine fat. **BMC Biotechnology**, v. 12, p. 1-8, 2012.

SEMMA, M. Trans fatty acids: properties, benefits and risks. **Journal of Health Science**, v. 48, p.7-13, 2002.

SHARMA, R.; CHISTI, Y.; BANERJEE, Y. C. Production, purification, characterization and applications of lipases. **Biotechnology Advances**, v. 19, p. 627-662, 2001.

SHIN, J.; AKOH, C.C; LEE, K. Enzymatic interesterification of anhydrous butterfat with flaxseed oil and palm stearin to produce low-trans spreadable fat. **Food Chemistry**, v. 120, p. 1-9, 2010.

SIEW, W. L.; CHEAH, K. Y.; TANG, W. L. Physical properties of lipase-catalyzed interesterification of palm stearine with canola oil blends. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 109, p. 97-106, 2007.

SILVA<sup>a</sup>, J. C.; PLIVELIC, T. S., HERRERA, M. L.; RUSCHEINSKY, N.; KIECKBUSCH, T. G.; LUCCAS, V.; TORRIANI, I. L. Polymorphic Phases of Natural Fat from Cupuassu (*Theobroma grandiflorum*) Beans: A WAXS/SAXS/DSC Study. **Crystal Growth Design**, v. 9, p. 5155-5163, 2009.

SILVA, J. O.; COPPEDE, J.S.; FERNANDES, V. C.; SANT'ANA, C. D.; TICLI, F.K.; MAZZI, M.V.; GIGLIO, J. R.; PEREIRA, P. S.; SOARES, A. M.; SAMPAIO, S. V. Antihemorrhagic, antinucleolytic and other antiophidian properties of the aqueous extract from *Pentaclethra macroloba*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 100, p. 145-152, 2005.

SILVA<sup>b</sup>, R. C.; COTTING, L. N.; POLTRONIERI, T. P.; BALCÃO, V. M.; ALMEIDA, D. B.; GONÇALVES, L. A. G.; GRIMALDI, R.; GIOIELLI, L. A. The effects of enzymatic interesterification on the physical-chemical properties of blends of lard and soybean oil. **LWT - Food Science and Technology**, v. 42, p. 1275-1282, 2009.

SILVA, R. C.; GIOIELLI, L. A. Propriedades físicas de lipídios estruturados obtidos a partir de banha e óleo de soja. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, p. 223-235, 2006.

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

SIMOENS, C. H.; DECKELBAUM, R. J.; CARPENTIER, Y. A. Metabolism of defined structured triglyceride particles compared to mixtures of medium and long chain triglycerides intravenously infused in dogs. **Clinical Nutrition**, v. 23, p. 665-672, 2004.

SIMÕES, I. S.; GIOIELLI, L. A.; OLIVEIRA, M. N. Misturas binárias e ternárias de gorduras hidrogenadas de óleo de soja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 17, p. 330-336, 1997.

SOARES, C. M. F.; CASTRO, H. F.; MORAES, F. F.; ZANIN, G. M. Characterization and utilization of *Candida rugosa* lipase immobilized on controlled pore sílica. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 77, p. 745-757, 1999.

SOARES, F. A. S. D. M.; SILVA, R. C.; SILVA, K. C. G.; LOURENÇO, M. B.; SOARES, D. F.; GIOIELLI, L. A. Effects of chemical interesterification on physicochemical properties of blends of palm stearin and palm olein. **Food Research International**, v. 42, p. 1287-1294, 2009.

SOARES, F. A. S. M.; OSÓRIO, N. M.; SILVA, R. C. GIOIELLI, L. A.; FERREIRA-DIAS, S. Batch and continuous lipase-catalyzed interesterification of blends containing olive oil for trans-free margarines. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 115, p. 413-428, 2013.

SONODA T.; TAKATA, Y.; UENO, S.; SATO, K. DSC and Synchrotron-radiation x-ray diffraction studies on crystallization and polymorphic behavior of palm stearin in bulk and oil-in-water emulsion states. **Journal of American Oil Chemists' Society**, v. 81, p. 365-373, 2004.

SPERANZA, P. **Produção de lipídios especiais por interesterificação enzimática de óleos da Amazônia e influência na atividade biológica**. Tese (Doutorado). Universidade Estadual de Campinas, 2014.

SPERANZA, P.; FALCÃO, A. O.; MACEDO, J. A.; SILVA, L. H. M.; RODRIGUES, A. M. C.; MACEDO, G. A. Amazonian Buriti oil: chemical characterization and antioxidant potential. **Grasas y Aceites**, v. 67, p. 1-9, 2016.

SPERANZA, P.; RIBEIRO, A. P. B.; MACEDO, G. A. Application of lipases to regiospecific interesterification of exotic oils from an Amazonian area. **Journal of Biotechnology**, v. 218, p. 13-20, 2016.

SPERANZA, P.; RIBEIRO, A. P. B.; MACEDO, G. A. Lipase catalyzed interesterification of Amazonian patauá oil and palm stearin for preparation of specific-structured oils. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, p. 8268-8275, 2015.

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

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

VALENZUELA, A.; KING, J.; NIETO, S. Trans fatty acid isomers from hydrogenated fats: the controversy about health implications. **Grasas y Aceites**, v.46, p. 369-375, 1995.

VENTURIERI, A.; FERNANDES, W. R.; BOARI, A. J.; VASCONCELOS, M. A. **Relação entre ocorrência do amarelecimento fatal do dendezeiro (*Elaeis guineensis* Jacq.) e variáveis ambientais no estado do Pará**. In: Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto. INPE. Anais XIV, p. 523-530. Natal, 2009.

WADA, J. K. A. **Produção de gorduras alimentícias zero trans utilizando óleo de palma, estearina de palma e óleo de soja totalmente hidrogenado**. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos). Universidade Estadual de Campinas, 2007.

WEBER, N.; MUKHERJEE, K. D. **Lipid Biotechnology**. In: Food Lipids. Chemistry, Nutrition and Biotechnology (Ed. AKOH, C.C.; MIN, D.B.); 3<sup>rd</sup> edition, 2008.

WILLIS, W. M.; MARANGONI, A. G. **Enzymatic interesterification**. In: Food Lipids: Chemistry Nutrition and Biotechnology. 2<sup>nd</sup> ed: Ed. AKOH, C. C.; MIN, D. B. New York, 2002.

WIRKOWSKA-WOJDYŁA, M.; BRYŚ, J.; GÓRSKA, A.; OSTROWSKA-LIGEŻA, E. Effect of enzymatic interesterification on physiochemical and thermal properties of fat used in cookies. **LWT - Food Science and Technology**, v. 74, p. 99-105, 2016.

WOERFEL, J. B. Formulation of soy oil products. **Grasas y Aceites**, v. 46, p. 357365, 1995.

WONG, W.C., BASRI, M., RAZAK, C.N.A., SALLEH, A.B. Synthesis of medium-chain glycerides using lipase from *Candida rugosa*. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v.77, p. 85-88, 2000.

YANG, T. H.; JANG, J.; JUN HAN, J.; RHEE, J. S. Enzymatic synthesis of low-calorie structured lipids in a solvent-free system. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 78, p. 291-295, 2001.

YAZDI, Z. K.; ALEMZADEH, I. Improvement of palm oil and sunflower oil blends by enzymatic interesterification. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 46, p. 1093-1099, 2011.

ZAINAL, Z.; YUSOFF, M. S. A. Enzymatic Interesterification of Palm Stearin and Palm Kernel Olein. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 76, p. 1003-1008, 1999.

ZALIHA, O.; CHONG, C. L.; CHEOW, C. S.; NORIZZAH, A. R.; KELLENS, M. J. Crystallization properties of palm oil by dry fractionation. **Food Chemistry**, v. 86, p. 245-250, 2004.

ZAMBIAZI, R. C.; PRZYBYLSKI, R.; ZAMBIAZI, M. W.; MENDONÇA, C. B. Fatty acid composition of vegetable oils and fats. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 25, p. 111-120, 2007.

## APÊNDICES

### APÊNDICE A – Ficha técnica da Lipozyme TL IM (*Thermomyces lanuginosus*).

## Ficha de Informação do Produto



1 de 2

Válido a partir de 2014-09-06

# Lipozyme® TL IM

Neste produto a atividade enzimática chave é fornecida por lipase, que hidrolisa ligações éster em glicerídeos

#### CARACTERÍSTICAS DO PRODUTO

Enzima Declarada	lipase
Atividade declarada	250 IUN/g
Cor	Branco natural
Apresentação	granulado imobilizado
Densidade de aproximadamente (g/ml)	0,40
Transportadores	maltodextrina
	Dióxido de silício, veiculo

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

#### CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO

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

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

O produto oferece desempenho ideal se armazenado a 0–10 °C/32–50 °F e usado antes da data de validade. Se armazenado a até 25 °C/77 °F, o produto deve ser usado dentro de 3 meses após a entrega.

#### ESPECIFICAÇÃO DO PRODUTO

	Limite Inferior	Limite Superior	Unidade
Interestification unit IUN	250		/g
Perda durante a secagem	-	8	%
Laser diffraction >1180 micron	-	15	%
Laser diffraction <250 micron	-	10	%
Contagem total de viáveis	-	50000	/g
Bactéria Coliforme	-	30	/g
E.Coli	Não detectado		/25 g
Salmonella	Não detectado		/25 g
Metais pesados		Máx 30	mg/kg
Chumbo		Máx 5	mg/kg
Arsénico		Máx 3	mg/kg
Cádmio		Máx 0.5	mg/kg
Mercúrio		Máx 0.5	mg/kg

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

#### PRECAUÇÕES DE SEGURANÇA E MANUSEIO

Enzimas são proteínas. A inalação de poeira ou aerossóis pode induzir sensibilização e causar reações alérgicas em indivíduos sensibilizados. Algumas enzimas podem irritar a pele, os olhos e as membranas mucosas em caso de contato prolongado. Veja a FISPQ ou o Manual de Segurança para mais informações sobre como manusear o produto com segurança e o que fazer em caso de derramamento.

#### COMPOSIÇÃO

Transportadores	maltodextrina
Conservantes	Dióxido de silício, veiculo
	Benzoato de sódio
	Sorbato de potássio
Estabilizantes	Cloreto de sódio

#### CONFORMIDADE

O produto está em conformidade com as especificações de pureza recomendadas para enzimas de grau alimentício definidas pelo Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) e o Food Chemicals Codex (FCC).

Os certificados Kosher e Halal encontram-se disponíveis no Customer Center ou com o representante de vendas.

#### STATUS GM

Este produto não é um OGM.

O produto enzimático é produzido por fermentação de um microrganismo que não está presente no produto final. O organismo de produção foi melhorado por meio da biotecnologia moderna.

#### CERTIFICAÇÕES

A Novozymes é signatária do Pacto Global das Nações Unidas, da Convenção das Nações Unidas sobre Diversidade Biológica e reportamos o nosso desempenho de sustentabilidade através da Global Reporting Initiative (GRI). Ver todos os nossos compromissos no âmbito da sustentabilidade em [www.novozymes.com](http://www.novozymes.com).




© Novozymes AS

## Lipozyme<sup>®</sup> TL IM

### SEGURANÇA ALIMENTAR

A Novozymes conduziu uma análise de risco e preparou um plano APPCC descrevendo os pontos críticos de controle (PCCs). O plano APPCC é respaldado por um amplo programa de pré-requisitos implementado nas Boas Práticas de Fabricação da Novozymes.

O produto é fabricado de acordo com o plano APPCC da Novozymes, as BPF e outros requisitos do Sistema de Gestão de Qualidade Novozymes.

O produto está em conformidade com os requisitos de pureza relacionados à micotoxinas recomendados pelo JECFA FAO/OMS e FCC.

O produto é produzido em conformidade com a certificação FSSC 22000.



### EMBALAGEM

O produto está disponível em diferentes tipos de embalagem. Entre em contato com o representante de vendas para mais informações.

Novozymes Latin America Ltda.  
Rua professor Francisco Ribeiro 683  
CEP 83707-660 - Araucária - Paraná  
Brasil

Tel. +55 41 641 1000  
Fax +55 41 643 1443

Para mais informações, ou endereços de nossos escritórios, visite: [www.novozymes.com](http://www.novozymes.com)

A legislação, a regulamentação e/ou os direitos de terceiros podem impedir os clientes de importar, utilizar, processar e/ou revender os produtos aqui mencionados de determinada maneira. Sem um acordo em separado e por escrito entre o cliente e a Novozymes com essa finalidade, este documento não se constitui em uma representação ou garantia de qualquer espécie e está sujeito a alterações sem aviso prévio.

**APÊNDICE B** – Detalhamento do software 1,2,3 óleos utilizado para o cálculo da composição em triacilgliceróis das amostras puras e das misturas não interesterificadas.

O programa computacional foi desenvolvido por Antoniosi Filho, Mendes e Lanças (1995) e baseia-se em equações matemáticas que procuram prever a porcentagem molar dos triacilgliceróis presentes em óleos gorduras vegetais, a partir da composição de ácidos graxos destas amostras, e que são a base da hipótese de distribuição 1,2,3-randômica.

Segundo essas equações matemáticas, se A, B e C são as porcentagens molares dos ácidos graxos A, B e C, então a porcentagem molar de triacilgliceróis contendo somente um ácido, tal como o ácido graxo A, é:

$$\%AAA = \frac{A^3}{10000}$$

A porcentagem molar de triacilgliceróis contendo 2 ácidos graxos diferentes, tais como A e B, é:

$$\%AAB = \frac{3 \cdot A^2 \cdot B}{10000}$$

A porcentagem molar de triacilgliceróis contendo três ácidos graxos diferentes é:

$$\%ABC = \frac{6 \cdot A \cdot B \cdot C}{10000}$$

Usando as equações matemáticas descritas acima, o autor construiu um programa de computador, na linguagem TURBO-PASCAL (versão 5.0), com o objetivo de prever a composição em triacilgliceróis de um óleo vegetal, a partir da composição de seus ácidos graxos, levando em consideração:

- O fato de que vários trabalhos utilizando a técnica de hidrólise via lipase pancreática têm estabelecido que a hidroxila C-2 do glicerol é preferencialmente acilada por ácidos graxos insaturados, e que as hidroxilas C-1 e C-3 das extremidades do glicerol são subsequentemente aciladas pelos ácidos graxos remanescentes e por ácidos graxos insaturados não requeridos na posição C-2 do glicerol.

- A hidroxila C-3 do glicerol contém um ácido graxo com um grau de insaturação maior do que o apresentado pelo ácido graxo que ocupa a posição C-1 do glicerol. No caso de haver ácidos graxos com mesmo grau de insaturação ocupando as posições C-1 e C-3 do glicerol, admite-se que, dentre estes dois ácidos graxos, o de maior massa molecular estará ocupando a posição C-3.

**APÊNDICE C** – Índice de acidez das amostras puras, das misturas não interesterificadas, das misturas interesterificadas antes da remoção dos AGL e das misturas após a remoção dos ácidos graxos livres (etapa final da interesterificação enzimática).

**Tabela 1** - Índice de acidez das amostras puras, das misturas não interesterificadas (NIE), das misturas interesterificadas antes da remoção dos AGL (IE) e após a remoção dos ácidos graxos livres (IE<sup>1</sup>).

Amostra	Acidez (%)*		
	NIE	IE	IE <sup>1</sup>
Óleo de pracaxi	1,80 ± 0,03 <sup>f</sup>	-	-
Gordura de cupuaçu	4,03 ± 0,01 <sup>a</sup>	-	-
Estearina de Palma	0,21 ± 0,03 <sup>k</sup>	-	-
PC 40:60	3,17 ± 0,01 <sup>b,B</sup>	6,25 ± 0,01 <sup>a,A</sup>	0,43 ± 0,00 <sup>c,d,C</sup>
PC 50:50	2,95 ± 0,02 <sup>c,B</sup>	5,78 ± 0,02 <sup>b,A</sup>	0,65 ± 0,04 <sup>b,C</sup>
PC 60:40	2,68 ± 0,02 <sup>d,B</sup>	5,47 ± 0,04 <sup>c,A</sup>	0,51 ± 0,00 <sup>c,C</sup>
PC 70:30	2,49 ± 0,05 <sup>e,B</sup>	5,25 ± 0,12 <sup>d,A</sup>	0,39 ± 0,05 <sup>d,C</sup>
PE 40:60	0,72 ± 0,04 <sup>j,B</sup>	3,37 ± 0,02 <sup>f,A</sup>	0,14 ± 0,03 <sup>a,C</sup>
PE 50:50	0,85 ± 0,04 <sup>i,B</sup>	3,41 ± 0,01 <sup>f,A</sup>	0,36 ± 0,02 <sup>d,C</sup>
PE 60:40	1,09 ± 0,05 <sup>h,B</sup>	3,40 ± 0,01 <sup>f,A</sup>	0,68 ± 0,01 <sup>b,C</sup>
PE 70:30	1,23 ± 0,04 <sup>g,B</sup>	3,67 ± 0,07 <sup>e,A</sup>	0,39 ± 0,02 <sup>d,C</sup>

Os valores representam média ± desvio padrão. \*% em ácido oleico. Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística significativa entre as amostras ( $p \leq 0,05$ ). Letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença estatística significativa entre as amostras ( $p \leq 0,05$ ). PC – pracaxi:cupuaçu; PE – pracaxi:estearina; NIE – amostra não-interesterificada; IE – mistura interesterificada; IE<sup>1</sup> - mistura interesterificada após a remoção dos AGL; ND – não determinado.