

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo deste trabalho será disponibilizado somente a partir de 17/02/2019.

RESÍDUOS DE LARANJA COMO FONTE DE ENZIMAS E COMPOSTOS BIOATIVOS

MILENE STEFANI PEREIRA

ORIENTADORA: PROF^a ADJ^a LUCIANA FRANCISCO FLEURI

CO-ORIENTADORA: PROF^a DR^a MÁRCIA ORTIZ MAYO MARQUES

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências,
Campus de Botucatu, UNESP, para obtenção do título de
Mestre no Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia.

BOTUCATU – SP

2017



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Campus de Botucatu



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“Júlio de Mesquita Filho”
INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS DE BOTUCATU

RESÍDUOS DE LARANJA COMO FONTE DE ENZIMAS E
COMPOSTOS BIOATIVOS

MILENE STEFANI PEREIRA

ORIENTADORA: PROF^a ADJ^a LUCIANA FRANCISCO FLEURI

CO-ORIENTADORA: PROF^a DR^a MÁRCIA ORTIZ MAYO MARQUES

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências,
Campus de Botucatu, UNESP, para obtenção do título de
Mestre no Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia.

BOTUCATU – SP

2017

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Pereira, Milene Stefani.

Resíduos de laranja como fonte de enzimas e compostos bioativos / Milene Stefani Pereira. - Botucatu, 2017

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Luciana Francisco Fleuri

Coorientador: Márcia Ortiz Mayo Marques

Capes: 90400003

1. Laranja - Indústria. 2. Lipase. 3. Bioquímica.
4. Fenóis. 5. Compostos bioativos. 6. Resíduos - Subprodutos.

Palavras-chave: Atividade biológica; Compostos fenólicos; Descarte; Laranja; Lipases.

*Dedico este trabalho aos meus pais Júlio e Rose,
por todo amor e incentivo.*

AGRADECIMENTOS

Expresso meus sinceros agradecimentos:

Primeiramente à Deus por todas as oportunidades oferecidas e por me capacitar para cada conquista.

Aos meus pais Júlio e Rose, meu pai pelo apoio incondicional em cada momento, por possibilitar meus sonhos e por todo o amor e minha mãe por ser a minha maior incentivadora, por todo cuidado, dedicação e por todo amor.

Ao meu irmão Giovani por ser meu companheiro de vida e sempre torcer por mim.

Ao meu namorado Cauê que é meu companheiro e participou ativamente desse trabalho, me acompanhando nas viagens que foram necessárias e as idas ao laboratório em horários adversos sempre com o maior carinho.

À minha orientadora Luciana por todo o conhecimento, amizade e carinho, nessa parceria de quase 5 anos de trabalho, onde me ensinou sobre bioquímica, amor ao trabalho e ao próximo.

À minha co-orientadora Márcia, que abraçou nossas ideias com todo o carinho e nos ajudou no desenvolvimento do trabalho e do meu conhecimento.

À pesquisadora Cássia que me assessorou nos experimentos com muita boa vontade e carinho, me presenteou com seu conhecimento e companhia.

À Daniela pela ajuda em todos os procedimentos realizados no Instituto Agrônomo de Campinas – IAC e pelas boas conversas.

À Daniela representante da empresa JBT-Food Tech, por ter sido tão solícita e confiar na seriedade do nosso trabalho.

À empresa JBT- Food Tech, por ceder os resíduos de laranja utilizados neste trabalho.

Ao Prof Dr Willian Fernando Zambuzzi e ao seu grupo de pesquisa do Laboratório de Bioensaios e Dinâmica Celular – LaBio – IBB, que colaboraram com parte deste trabalho.

À minha amiga e mentora científica Clarissa, que me ensinou muito sobre a área de pesquisa deste trabalho, me incentivou e ajudou em momentos de dúvidas.

Aos meus colegas de laboratório: Débora pelo auxílio sempre simpático em qualquer situação, pelo companheirismo e ajuda nas estatísticas deste trabalho; Valesca pelos sábios conselhos, pelas tardes processando os resíduos de laranja, pelas risadas e companheirismo; Mirella por todo o conhecimento repassado, pela dedicação, pelas conversas, pelos gestos repletos de carinho e pelo companheirismo; Júlia por todas as reações aprendidas juntas, pelas cantorias no laboratório e por todo o

companheirismo; João por ter me ajudado ativamente em parte deste trabalho, pelas histórias incomuns e pelas risadas; Bruna por ingressar comigo nessa fase e pelas risadas.

À minha banca de qualificação da qual fizeram parte Prof^a Dr^a Mayara, minha amiga e ex-companheira de laboratório e o Prof Dr Valber, que me presentearam com sugestões que enriqueceram muito meu trabalho e minha postura para conduzi-lo.

À minha banca de defesa Prof Dr Pedro e Prof Dr Ruann, que aceitaram meu convite para contribuírem com o meu trabalho.

Às minhas amigas que me acompanham desde a graduação e dividem este estilo de vida comigo, as alegrias e aflições da pós-graduação: Camila “Sova”, Maira “Sauza”, Flávia “Klo” e Camila “Pandora”.

Aos meus amigos que me acolheram na sua casa, com toda a hospitalidade e carinho, Laura e Júnior.

Aos servidores do departamento de Química e Bioquímica do Instituto de Biociências: Gabriela por todas as gentilezas, Augusto, Fábio e Elaine pelo suporte laboratorial de todo dia.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pela concessão da bolsa de estudos.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP – Processo 2015/01753-8.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq.

Ao Instituto Agrônomo de Campinas – IAC por possibilitar a realização de parte deste trabalho.

À Universidade Estadual “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP.

*Todo conhecimento começa tão incomum - não
reconhecido, desvalorizado e, por vezes, não aceito.
Mas, com a perspectiva correta, o incomum pode
se tornar o excepcional.*

ELSEVIER

Lista de tabelas

Tabela 1. Lipases de origem vegetal.	12
Tabela 2. Proteases de origem vegetal comerciais.	14
Tabela 3. Atividade de lipase relacionando variedades e frações de laranja.	31
Tabela 4. Atividades de lipases dos resíduos de laranja em diferentes condições de ensaio.	39
Tabela 5. Regioespecificidade de lipases obtidas de resíduos do processamento de laranja.	42
Tabela 6. Teor de umidade dos resíduos de laranja de diferentes variedades.	46
Tabela 7. Principais classes de substâncias presentes nos resíduos de laranja.	50
Tabela 8. Concentração de hesperidina nos resíduos de laranja (mg/100g amostra).	52
Tabela 9. Redução de radicais DPPH pelos resíduos de laranja expressos em $\mu\text{mol TE/g}$ de amostra.	54

Lista de Figuras

Figura 1. Estrutura química da hesperidina.	18
Figura 2. Esquema sinalizando os momentos em horas (h) de cada processo do MTT.	29
Figura 3. pH ótimo das lipases obtidas de resíduos de laranja da variedade Valência.	33
Figura 4. pH de estabilidade das lipases obtidas de resíduos de laranja da variedade Valência.	34
Figura 5. pH ótimo das lipases obtidas de resíduos de laranja da variedade Natal.	34
Figura 6. pH de estabilidade das lipases obtidas de resíduos de laranja da variedade Natal.	35
Figura 7. Temperatura ótima das lipases obtidas de resíduos de laranja da variedade Valência.	36
Figura 8. Temperatura de estabilidade das lipases obtidas de resíduos de laranja da variedade Valência.	37
Figura 9. Temperatura ótima das lipases obtidas de resíduos de laranja da variedade Natal.	37
Figura 10. Temperatura de estabilidade das lipases obtidas de resíduos de laranja da variedade Natal.	38
Figura 11. Especificidade das lipases sobre substratos sintéticos de diferentes tamanhos de cadeia carbônica.	40
Figura 12. Produtos de reação da hidrólise da trioleína realizada por lipases de diferentes resíduos de laranja e lipase comercial.	43
Figura 13. Teor de fenóis totais expressos em $(\text{ACE}/100\text{g}^{-1})$ e $(\text{AGE}/100\text{g}^{-1})$	47
Figura 14. Teor de flavonoides totais nos resíduos de laranja $(\text{mg HE}/100\text{g}^{-1})$	49
Figura 15. Perfil químico do frit de laranja das variedades Hamlin (A), Pêra (B), Valência (C) e Natal (D).	51
Figura 16. Capacidade sequestrante do radical DPPH (%) dos resíduos de laranja de diferentes variedades.	53
Figura 17. Viabilidade das células NHI-3t3, HaCat e SCC9 em teste com casca de laranja das variedades Hamlin (A), Pêra (B), Valência (C) e Natal (D).	58
Figura 18. Viabilidade das células NHI-3t3, HaCat e SCC9 em teste com frit de laranja das variedades Hamlin (A), Pêra (B), Valência (C) e Natal (D).	59
Figura 19. Viabilidade das células NHI-3t3, HaCat e SCC9 em teste com polpa de laranja das variedades Hamlin (A), Pêra (B), Valência (C) e Natal (D).	60

Sumário

Resumo	1
Abstract.....	2
1 INTRODUÇÃO	3
2 REVISÃO DA LITERATURA	6
2.1 Resíduos.....	6
2.2 Laranja	7
2.3 Enzimas.....	10
2.3.1 Lipases	10
2.3.2 Proteases	13
2.4 Compostos bioativos.....	16
3 OBJETIVOS.....	19
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	20
4.1 Obtenção e preparação dos resíduos vegetais	20
4.2 Atividade de lipase dos resíduos de laranja	20
4.3 Caracterização das lipases presente nos resíduos de laranja.....	21
4.3.1 Influência do pH na atividade e estabilidade de lipase dos resíduos de laranja.....	21
4.3.2 Influência da temperatura na atividade e estabilidade de lipase dos resíduos de laranja.....	21
4.4 Especificidade das lipases dos resíduos de laranja quanto ao tamanho de cadeia do substrato	21
4.5 Regioespecificidade das lipases dos resíduos de laranja	22
4.6 Atividade de protease dos resíduos de laranja	23
4.7 Teor de umidade dos resíduos de laranja.....	23
4.8 Extração de compostos fenólicos dos resíduos de laranja	24
4.9 Quantificação do teor dos fenóis totais dos resíduos de laranja	24
4.10 Quantificação do teor dos flavonoides totais dos resíduos de laranja	25
4.11 Perfil dos constituintes químicos dos resíduos de laranja.....	25
4.12 Atividade antioxidante dos resíduos de laranja	26
4.13 Atividades antimicrobianas dos resíduos de laranja	27
4.14 Avaliação da citotoxicidade – teste de viabilidade celular por meio da redução de MTT.....	28
4.15 Análise estatística	29
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
5.1 Atividade de lipases dos resíduos de laranja	31
5.2 Caracterização de lipases presente nos resíduos de laranja	33
5.2.1 Influência do pH na atividade de lipase dos resíduos de laranja	33
5.2.2 Influência da temperatura na atividade de lipase dos resíduos de laranja.....	36
5.3 Especificidade das lipases dos resíduos de laranja quanto ao tamanho de cadeia do substrato	40
5.4 Regioespecificidade das lipases dos resíduos de laranja	42
5.5 Atividade de protease dos resíduos de laranja	45
5.6 Teor de umidade dos resíduos de laranja.....	46
5.7 Teor dos fenóis totais dos resíduos de laranja	47
5.8 Teor de flavonoides totais dos resíduos de laranja	49
5.9 Perfil dos constituintes químicos dos resíduos de laranja.....	50
5.10 Atividade antioxidante dos resíduos de laranja.....	53
5.11 Atividades antimicrobiana dos resíduos de laranja.....	55

5.12 Avaliação da citotoxicidade – teste de viabilidade celular por meio da redução de MTT.....	57
6 CONCLUSÃO.....	62
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63

Resumo

Os resíduos agroindustriais são o destaque deste trabalho. Resíduos de laranja, uma cultura de extrema importância no Brasil, foram utilizados devido ao seu descarte abundante e pelo potencial em conter diversas moléculas de interesse biotecnológico. O objetivo foi avaliar os descartes do processamento de suco de laranja das principais variedades comerciais Hamlin, Pêra, Valência e Natal quanto à presença de enzimas e compostos bioativos. As lipases se mostraram presentes em todas as variedades de laranjas estudadas. Nas variedades Hamlin, Valência e Natal é a primeira vez que lipases são documentadas. As lipases do bagaço e polpa de Hamlin apresentaram 27,45 U/g e 31,13 U/g de atividade lipolítica, respectivamente. As proteases não foram encontradas a partir dos métodos utilizados, deixando em aberto a possibilidade de testar novas metodologias, como critério de caracterização e contribuição literária. O perfil químico dos compostos fenólicos existentes nos resíduos de laranja foi determinado e apresentou cerca de 80% de flavanonas no geral. Além disso, foi detectado alto teor de hesperidina (em mg/100 g) nos resíduos da variedade Pêra (3294,6); Hamlin (2903,2); Natal (2885,9) e Valência (2880,2). Atividades biológicas como antioxidante, antimicrobiana e sobre a viabilidade celular também foram abordadas, sendo que os resíduos apresentaram capacidade de redução do radical DPPH em torno de 70%. No entanto, não apresentaram potencial antimicrobiano frente às bactérias e fungos testados. Nos testes de viabilidade celular alguns resíduos demonstraram citotoxicidade para uma linhagem celular cancerígena bucal, outros exibiram efetividade no estímulo do crescimento de fibroblastos. Esse estudo aponta um direcionamento para os resíduos da cadeia de produção do suco de laranja identificando e caracterizando moléculas, substâncias e compostos valiosos, passíveis de recuperação e aplicação.

Palavras-chave: laranja, lipases, descarte, compostos fenólicos, flavonoides e atividade biológica.

Abstract

The agroindustrial residues are the highlight of this work. Orange residues, a crop of extreme importance in Brazil, were used due to their abundant disposal and the potential to contain several molecules of biotechnological interest. The objective was to evaluate the discards of the orange juice processing of the main commercial varieties Hamlin, Pera, Valencia and Natal for the presence of enzymes and bioactive compounds. Lipases were present in all varieties of oranges studied. In the Hamlin, Valencia and Natal varieties is the first time lipases are documented. The lipases of Hamlin bagasse and pulp presented 27,45 U / g and 31,13 U / g of lipolytic activity, respectively. The proteases were not found from the methods used, leaving open the possibility of testing new methodologies as a criterion of characterization and literary contribution. The chemical profile of the phenolic compounds in orange residues was determined and showed about 80% of flavanones in general. In addition, high content of hesperidin (in mg / 100 g) was detected in the residues of the Pera variety (3294,6); Hamlin (2903,2); Natal (2885,9) and Valencia (2880,2). Biological activities such as antioxidant, antimicrobial and cell viability were also addressed and the residues presented a DPPH radical reduction capacity of around 70%. However, they not showed antimicrobial potential against the bacteria and fungi tested. In the cell viability tests some residues demonstrated cytotoxicity for an oral cancer cell line, others exhibited effectiveness in stimulating the growth of fibroblasts. This study indicates a direction for the residues of the orange juice production chain identifying and characterizing molecules, substances and valuable compounds that can be recovered and applied.

Keywords: orange, lipases, discard, phenolic compounds, flavonoids and biological activity.

1 INTRODUÇÃO

O processamento industrial de frutas e vegetais gera uma enorme quantidade de resíduos no mundo (KAPOOR et al., 2016). O descarte excedente e inadequado desses resíduos agroindustriais vem causando problemas de poluição ambiental, além de déficit comercial, visto que podem ser empregados em processos biotecnológicos e resultar em novos produtos de alto valor agregado (GOULA e LAZARIDES, 2015).

Uma área biotecnológica bastante promissora é a de bioprocessos que combina sustentabilidade e tecnologia, utilizando os descartes agroindustriais como substratos para cultivo de micro-organismos de grande interesse, produzindo indiretamente biomoléculas para diversas aplicações (NEETHU et al., 2015; FLEURI et al., 2014a). Sendo assim, é possível também obter biomoléculas diretamente desses resíduos (FLEURI, 2016).

O Brasil é o terceiro maior produtor de frutos frescos e transformados em todo o mundo, atrás apenas da China e Índia (SILVA et al., 2014b) e, dentre as diversas culturas produzidas em grande escala, a produção e o processamento de laranja doce (*Citrus sinensis* L. Osbeck) representam um mercado de grande porte e bem estabelecido, em que o Brasil é o principal produtor e exportador mundial. Entretanto, o consumo do suco de laranja apresentou queda significativa no último ano (CITRUSBR, 2015). Com o principal produto em declínio, uma alternativa viável, é a pesquisa de novos compostos obtidos a partir da mesma cadeia de produção.

As características do suco de laranja já estão bem esclarecidas e documentadas em artigos científicos, bem como o perfil dos compostos voláteis e sólidos, e atividade biológica dos compostos. Considerando que toneladas de laranja são direcionadas para a indústria de suco e nesse processo 50% do fruto é descartado (LANZA, 2003), existe uma fonte de resíduos promissores que até agora foi pouco explorada.

Os resíduos de laranja apresentam fibras e óleos essenciais já conhecidos e utilizados (ARANHA, 2011); demonstraram a presença de uma importante enzima em estudos recentes (OKINO-DELGADO e FLEURI, 2014); e baseado na composição do suco (SILVA, 2009), é possível que possuam outras biomoléculas interessantes e passíveis de recuperação e utilização comercial, havendo necessidade de pesquisa para elucidação da constituição. Além disso, é possível vislumbrar as possibilidades de aplicação dos componentes destes resíduos, bem como, possibilitar a elucidação de mecanismos bioquímicos e fisiológicos da fruta.

Enzimas representam algumas dessas biomoléculas de interesse, as quais são biocatalisadores que podem substituir catálises químicas em diversos processos industriais, devido às suas propriedades promissoras em condições ambientais variadas, altas atividades de conversão de substrato em produto, alta seletividade e especificidade (BARBOSA et al., 2015). Ao longo das últimas décadas, a busca por novas tecnologias com diminuição do desperdício e ambientalmente corretas, estão motivando o investimento em processos enzimáticos (CHOI et al., 2015).

Entre as inúmeras enzimas, as lipases (EC 3.1.1.3, triacilglicerol acilhidrolase) têm se destacado por catalisarem reações de hidrólise e de síntese (MIRANDA et al., 2015), com vasta aplicação na produção de detergentes, alimentos, produtos orgânicos, farmacêuticos, aromas, biosensores (GOLAKI et al., 2015) e biodiesel (FLEURI et al., 2014b).

Recentemente foi registrada a presença de lipases em resíduos de laranja da variedade Pêra (OKINO-DELGADO e FLEURI, 2014), porém, visando a cadeia de produção anual do suco de laranja e a geração dos resíduos, mais três variedades de laranja doce (Hamlin, Valência e Natal) são empregadas na obtenção do suco (SPADA, 2011). Essas variedades não apresentam até agora relato sobre a presença de lipases. Possuem características muito similares no sabor e rendimento, porém, apresentam diferenças em parâmetros como BRIX°, porcentagem de conversão em suco, porcentagem de cada fração de resíduo (JBT, 2011) e o período de colheita (MATTOS JUNIOR et al., 2005), podendo, portanto, apresentar diferenças quanto à presença das biomoléculas.

As proteases são enzimas multifuncionais, de extrema importância para as indústrias farmacêutica, médica, alimentícia e biotecnológica, e respondem por quase 60% de todas as enzimas disponíveis no mercado (CASTRO e SATO, 2013; RAMAKRISHNA et al., 2010; JINKA et al., 2009). São utilizadas no tratamento do couro, na produção de cerveja, na produção de hidrolisados proteicos, amaciante de carne, como agentes digestivos e na indústria de laticínios como coagulante, principalmente, para a produção de queijo (MAZORRA-MANZANO, 2013; FEIJOO-SIOTA E VILLA, 2011; MAHAJAN e MADGUJAR, 2010).

As proteases estão presentes em todos os organismos vivos existentes, podem ser obtidas de fontes (vegetal, animal e microbiana) e conduzem várias funções metabólicas essenciais (NEVES, 2014). Algumas proteases de origem vegetal já foram caracterizadas e são utilizadas e comercializadas por alto valor, tais como: papaína de

mamão (*Carica papaya*), bromelina de abacaxi (*Ananas comosus*) e ficina de figo (*Ficus spp.*) (BALA et al., 2012; DUBEY et al., 2007).

Na literatura atual não há registros de proteases em resíduos de laranja doce (*Citrus sinensis*), vertente que foi explorada neste trabalho.

Os compostos bioativos são substâncias que conferem ações benéficas à saúde exercendo várias funções do ponto de vista biológico, como atividade antioxidante, modulação de enzimas, estimulação do sistema imune, atividade antibacteriana e anticarcinogênica (COSTA e JORGE, 2011). Mais de 170 compostos oriundos de frutas cítricas, incluindo vitaminas, minerais, compostos fenólicos e terpenoides, com atividade antioxidante foram relatados na literatura (ZHOU, 2012). Entre os polifenóis das frutas cítricas, os ácidos fenólicos e flavonoides são os mais estudados (ZOU et al. 2016). Como um exemplo podemos citar a hesperidina, um flavonoide relacionado intimamente com frutas cítricas e que apresenta diversas atividades biológicas (UMENO et al., 2016; DEVI et al., 2015; IRANSHAHI et al., 2015).

Assim sendo, o presente trabalho investigou os resíduos de laranja de diferentes variedades para obtenção de enzimas e sua caracterização. Além disso, visou traçar o perfil dos compostos bioativos e suas atividades biológicas. Dessa forma, esse projeto redireciona os resíduos agroindustriais, fortalece uma cadeia de produção e pode trazer inovação em conjunto com novos produtos para o mercado.

6 CONCLUSÃO

Os resíduos de laranja provenientes do processamento de suco são bastante promissores na obtenção de enzimas e compostos bioativos.

As principais variedades de laranjas brasileiras demonstraram a presença de lipases, que apresentaram atividade em diferentes condições como faixas extensas de pH e temperatura, tornando-as ainda mais interessantes para processos industriais. Essas enzimas foram testadas em seu estado bruto, deixando em aberto a possibilidade de mais estudos em torno de sua aplicabilidade.

Proteases não foram encontradas nos resíduos de laranja nas metodologias utilizadas, esse dado direciona para novas metodologias e serve como registro científico dessa espécie, nas condições testadas.

Os compostos bioativos foram delineados neste estudo, evidenciando a presença da hesperidina, uma flavanona com diversas aplicações na indústria farmacêutica e alimentícia, bem como o perfil geral de compostos fenólicos presentes nesses resíduos.

Os resíduos de laranja demonstraram atividade antioxidante, no entanto, não apresentaram atividade antimicrobiana. Além disso, aumentaram o metabolismo de linhagens celulares, fato este importante em processos de regeneração e cicatrização; e inibiram o crescimento de uma linhagem celular cancerígena.

Portanto, os resíduos de laranja oriundos de uma indústria de grande porte e bem estabelecida, oferecem novas moléculas e inúmeras substâncias que podem ser utilizadas em outros processos e agregar valor a um resíduo que é descartado.

Diante dos resultados obtidos nesse trabalho, é possível salientar a necessidade de mais estudos em torno dos resíduos de laranja e das biomoléculas encontradas, a purificação das lipases obtidas, outros testes antioxidantes para avaliar potenciais aplicações desses resíduos e aplicação desses resíduos em mais linhagens celulares.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDELMOEZ, W.; MOSTAFA, N. A.; MUSTAFA, A. Utilization of oleochemical industry residues as substrates for lipase production for enzymatic sunflower oil hydrolysis. **Journal of Cleaner Production**, v. 59, p. 290–297, 2013.
- AGUIEIRAS, E. C. G.; CAVALCANTI-OLIVEIRA, E. D.; FREIRE, D. M. G. Current status and new developments of biodiesel production using fungal lipases. **Fuel**, v. 159, p. 52–67, 2015.
- ALMEIDA, C. C.; MONTEIRO, M. L. G.; COSTA-LIMA, B. R. C.; ALVARES, T. S.; CONTE-JUNIOR, C. A. In vitro digestibility of commercial whey protein supplements. **LWT - Food Science and Technology**, v. 61, p. 7–11, 2015.
- ALPAY, P. e UYGUN, D. A. Usage of immobilized papain for enzymatic hydrolysis of proteins. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 111, p. 56–63, 2015.
- AMIOT, M. J.; RIVA, C.; VINET, A. Effects of dietary polyphenols on metabolic syndrome features in humans: a systematic review. **Obesity Reviews**, v. 17, p. 573–586, 2016.
- ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária, consulta pública nº27, de 21 de maio de 2009.
- ARANHA, C. P. M. Caracterização de óleos extraídos de sementes de laranjas (*Citrus sinensis*) como aproveitamento de resíduos agroindustriais. 20/12/2011. 76f. Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto, 2011.
- ARSHAD, Z. I. M.; AMID, A.; YUSOF, F.; JASWIR, I.; AHMAD, K.; LOKE, S. P. Bromelain: an overview of industrial application and purification strategies. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 98, p. 7283–7297, 2014.
- ARAÚJO, E. I. M.; MONTEIRO, L. C. C. F.; OLIVEIRA, A. M. S.; ALVES, L. A.; BERTINI, L. M. Caracterização da atividade antioxidante, teor de fenóis totais e atividade larvicida frente ao *Aedes aegypti* de *Citrus sinensis* L. (Laranja). **Blucher Chemistry Proceedings**, v. 3, 2015.
- ATALLAH, O. O.; KANG, S.-H.; EL-MOHTAR, C. A.; SHILTS, T.; BERGUA, M.; FOLIMONOVA, S. Y. A 5'-proximal region of the *Citrus tristeza* vírus genome encoding two leader proteases is involved in vírus superinfection exclusion. **Virology**, v. 489, p. 108–115, 2016.

- AVELAR, M. H. M.; CASSIMIRO, D. M. J.; SANTOS, K. C.; DOMINGUES, R. C. C.; CASTRO, H. F.; MENDES, A. A. Hydrolysis of vegetable oils catalyzed by lipase extract powder from dormant castor bean seeds. **Industrial Crops and Products**, v. 44, p. 452–458, 2013.
- BABBAR, N. e OBEROI, H.S. Enzymes in value-addition of agricultural and agro-industrial residues. In: Brar, S.K., Verma, M. (Eds.), *Enzymes in Value-Addition of Wastes*. Nova Publishers, p. 29–50, 2014.
- BALA, M.; ISMAIL, N. A.; MEL, M.; JAMI, M. S.; SALLEH, H. M.; AMID, A. Bromelain Production: Current Trends and Perspective. **Archives Des Sciences**, v. 65, n. 11, 2012.
- BAEYENS-VOLANT, D.; MATAGNE, A.; MAHYAOUI, R. E.; WATTIEZ, R.; AZARKAN, M. A novel form of ficin from *Ficus carica* latex: Purification and characterization. **Phytochemistry**, v. 177, p. 154–167, 2015.
- BAKER, E.N. e DRENTH, J. The cysteine proteinases structure and mechanism. In: Jurnak, F., McPherson, A. (Eds.), *Biological Macromolecules and Assemblies*, v.3. John Wiley and Sons, New York, p. 313–368, 1987.
- BARBOSA, O.; ORTIZ, C.; BERENGUER-MURCIA, A.; TORRES, R.; RODRIGUES, R. C.; FERNANDEZ-LAFUENTE, R. Strategies for the one-step immobilization-purification of enzymes as industrial biocatalysts. **Biotechnology Advances**, v. 33, n. 5, 435–456, 2015.
- BENELLI, P. Agregação de valor ao bagaço de laranja (*Citrus sinensis* L. Osbeck) mediante obtenção de extratos bioativos através de diferentes técnicas de extração. 2010. 233f. Dissertação de Mestrado em Engenharia de Alimentos – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.
- BERK, Z. Introduction: history, production, trade and utilization. *Citrus Fruit Processing*, Academic press, 1 – 8, 2016.
- BEYNON, R. J. e BOND, J. S. *Proteolytic Enzymes: A practical approach*. Oxford University Press, New York, p. 257, 1996.
- BRACKETT, G. M.; LEWIS, J. B.; KIOUS, A. R.; MESSER, R. L. W; LOCKWOOD, P. E.; BRACKETT, W. W.; WATAHA J. C. Cytotoxicity of endodontic sealers after one year of aging *in vitro*. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, v.100B, p. 1729–1735, 2012.
- CALADO, C. R. C.; MONTEIRO, S. M. S.; CABRALI, J. M. S.; FONSECA L. P. Effect of pre-fermentation on the production of cutinase by a recombinant

- Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 93, p. 354, 2002.
- CARVALHO, C. R. L.; MANTOVANI, D. M. B.; CARVALHO, P. R. N.; MORAES, R. M. Análises químicas de alimentos. **Instituto de Tecnologia de Alimentos**, p. 121, 1990.
- CASQUETE, R.; CASTRO, S. M.; MARTIN, A.; RUIZ-MOYANO, S.; SARAIVA, J. A.; CÓRDOBA, M. G.; TEIXEIRA, P. Evaluation of the effect of high pressure on total phenolic content, antioxidant and antimicrobial activity of citrus peels. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 31, p. 37–44, 2015.
- CASTRO, H. F.; MENDES, A. A.; DOS SANTOS J. C.; DE AGUIAR, C. L. Modificação de óleos e gorduras por biotransformação. **Química Nova**, v. 27, p. 146–156, 2004.
- CASTRO, R. J. S. Production, biochemical characterization of a protease from *Aspergillus oryzae* and its application to protein hydrolysis for obtaining hydrolysates with antioxidant activity. 31/08/2012. 181f. Dissertação de Mestrado em Ciência dos Alimentos - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 2012.
- CASTRO, R. J. S. e SATO, H. H. Synergistic effects of agroindustrial wastes on simultaneous production of protease and alfa-amylase under solid state fermentation using a simplex centroid mixture design. **Industrial Crops and Products**, v. 49, p. 813–821, 2013.
- CHAHINIAN H. e SARDA L. Distinction between esterases and lipases: comparative biochemical properties of sequence-related carboxylesterases. **Protein & Peptide Letters**, v. 16, p. 1149–1161, 2009.
- CHARNEY, J. e TOMARELLI, R. M. A colorimetric method for the determination of the proteolytic activity of duodenal juice. **Journal of Biological Chemistry**, v. 171, p. 501–505, 1947.
- CHEN, J.; LINDMARK-MANSSON, H.; GORTON, L.; AKESSON, B. Antioxidant capacity of bovine milk assayed by spectrophotometric and amperometric methods. *Int Dairy J.*, v. 13, p. 927–935, 2003.
- CHEN, M. L.; YANG, D. J.; LIU, S. C. Effects of drying temperature on the flavonoid, phenolic acid and antioxidative capacities of the methanol extract of citrus fruit (*Citrus sinensis* L. Osbeck) peels. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 46, p. 1179–1185, 2011.

- CHOI, J-M.; HAN, S-S.; KIM, H-S. Industrial applications of enzyme biocatalysis: Current status and future aspects. **Biotechnology Advances**, v. 33, p. 1443–1454, 2015.
- CITRUSBR – Associação Nacional dos Exportadores de Sucos Cítricos. O retrato da citricultura brasileira. Disponível em: <http://www.citrusbr.com/#> Acessado em 28 de Abril, 2015.
- COELHO, M. A. Z.; LEITE, S. G. F.; ROSA, M. F.; FURTADO, A. A. L. Aproveitamento de resíduos agroindustriais: Produção de enzimas a partir da casca de coco verde. **B.CEPPA**, Curitiba, v. 19, p. 3342, 2001.
- COLLA, L. M.; FICANHA, A. M. M.; RIZZARDI, J.; BERTOLIN, T. E.; REINEHR, C. O.; COSTA, J. A. V. Production and characterization of lipases by two new isolates of *Aspergillus* through solid-state and submerged fermentation. **BioMed Research International**, p. 1–9, 2015.
- COSTA, T. e JORGE, N. Beneficial bioactive compounds present in nut and walnuts. **UNOPAR Científica: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 3, p. 195–203, 2011.
- CROOKS, G. E.; REES, G. D.; ROBINSON, B. H.; SVENSSON, M.; STEPHENSON, G. R. Comparison of hydrolysis and esterification behavior of *Humicola lanuginosa* and *Rhizomucor miehei* lipases in AOT-stabilized water-in-oil microemulsions: I. Effect of pH and water content on reaction kinetics. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 48, p. 78–88, 1995.
- CURTO, R. L.; TRIPODO, M. M.; LEUZZI, U.; GIUFFRÈ, D.; VACCARINO, C. Flavonoids recovery and SCP production from Orange peel. **Bioresource Technology**, v. 42, p. 83–87, 1992.
- DAIUTO, E. R.; TREMOCOLDI, M. A.; ALENCAR, S. M.; VIEITES, R. L.; MINARELLI, P. H. Composição química e atividade antioxidante da polpa e resíduos de abacate ‘Hass’. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, p. 417–424, 2014.
- DAY L., AUGUSTIN M. A., BATEY I. L., WRIGLEY C. W. Wheat-gluten uses and industry needs. **Trends in Food Science & Technology**, v. 17, p. 82–90, 2006.
- DEMAJORIVIC, J. Da política tradicional de tratamento do lixo à política de gestão de resíduos sólidos: as novas prioridades. **Revista de Administração de Empresas**, v. 35, p. 88–93, 1995.

- DEVARAJ, K. B.; KUMAR, P. R.; PRAKASH, V. Comparison of activity and conformational changes of ficin during denaturation by urea and guanidine hydrochloride. **Process Biochemistry**, v. 46, p. 458–464, 2011.
- DEVASAGAYAM, T. P. A.; TILAK, J. C.; BOLOOR, K. K.; SANE, K. S.; SAROJ, S.; GHASKADBI, S. S.; LELE, R. D. Free Radicals and Antioxidants in Human Health: Current Status and Future Prospects. **Journal of the Association of Physicians of India**, v. 52, p. 794–804, 2004.
- DEVI, K. P.; RAJAVEL, T.; NABAVI, S. F.; SETZER, W. N.; AHMADI, A.; MANSOURI, K.; NABAVI, S. M. Hesperidin: A promising anticancer agente from nature. **Industrial Crops and Products**, v. 76, p. 582–589, 2015.
- DHUIQUE-MAYER, C.; CARO, Y.; PINA, M.; RUALES, J.; DORNIER, M., GRAILLE, J. Biocatalytic properties of lipase in crude latex from babaco fruit (*Carica pentagona*). *Biotechnology Letters*, v. 23, p. 1021–1024, 2001.
- DONADIO, L. C.; FIGUEIREDO, J. O.; PIO, R. M. Variedades cítricas brasileiras. **Boletim agrícola**, UNESP/FUNEP/EECB, Jaboticabal, v. 1, p. 228–229, 1995.
- DOS ANJOS, M. M.; SILVA, A. A.; PASCOLI, I. C.; MIKCHA, J. M. G.; MACHINSKI JR, M.; PERALTA, R. M.; ABREU FILHO, B. A. Antibacterial activy of papain and bromelain on *Alicyclobacillus* spp. **International Journal of Food Microbiology**, v. 216, p. 121–126, 2016.
- DUBEY, V. K.; PANDE, M.; SINGH, B. K.; JAGANNADHAM, M. V. Papain-like proteases: applications of their inhibitors. **African Journal of Biotechnology**, v. 9, p. 1077–1086, 2007.
- EASTMOND, P. J. Cloning and characterization of the acid lipase from Castor Beans. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 279, p. 45540–45545, 2004.
- EJEDEGBA, B. O.; ONYENEKE, E. C.; OVIASOGIE, P. O. Characteristics of lipases isolated from coconut (*Cocos nucifera* linn) seed under diferent nutrient treatments. **African Journal of Biotechnology**, v. 6, n. 6, p. 723–727, 2007.
- EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Considerações sobre a produção de laranja no Estado de São Paulo. 2013 Disponível em <http://www.alice.cnptia.embrapa.br>, acessado em Novembro de 2015.
- EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Produção de mamão no Brasil. Disponível em http://www.cnpmf.embrapa.br/index.php?p=pesquisaculturas_pesquisadasmamao.php&menu=, acessado em Maio de 2014.

- EMBUSCADO, M. E. Spices and herbs: Natural sources of antioxidants – a mini review. **Journal of Funtional Foods**, v. 18, p. 811–819, 2015.
- EPA - United States Environmental Protection Agengy. Land, waste and cleanup science. Disponível em: www.epa.gov/, acessado em Agosto de 2013.
- ESHAMAH, H.; HAN, I.; NAAS, H.; ACTON, J.; DAWSON, P. Antibacterial effects of natural tenderizing enzymes on different strains of *Escherichia coli* O157: H7 and *Listeria monocytogenes* on beef. **mESC: Biochemical Journal**, v. 96, p. 1494–1500, 2014.
- FAN, J.; YANG, Y. W.; GAO, X.; DENG, W.; FALARA, V.; KANELIS, A. K.; LI, Z. G. Expression of a senescence-associated cysteine protease gene related to peel pitting of navel orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 98, 281–289, 2009.
- FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations, database statistical. 2012. Disponível em <http://fao.org>, acessado em Julho de 2013.
- FARQUHARSON, C.; MILNE, J.; LOVERIDGE, N. Mitogenic action of insulin-like growth factor-I on human osteosarcoma MG-63 cells and rat osteoblasts maintained in situ: the role of glucose-6-phosphate dehydrogenase. **Bone Miner**, v. 22, p. 105–115, 1993.
- FEDATTO, L. M.; SILVA-STENICO, M. E.; ETCHEGARAY, A.; PACHECO, F. T. H.; RODRIGUES, J. L. M.; TSAI, S. M. Detection and characterization of protease secreted by the plant pathogen *Xylella fastidiosa*. **Microbiological Research**, v. 161, p. 263–272, 2006.
- FEIJOO-SIOTA, L. e VILLA, T. G. Native and biotechnologically engineered plant proteases with industrial applications. **Food Bioprocess Technology**, v. 6, p. 1066–1088, 2011.
- FERNANDES, B. C. Desenvolvimento histórico da citricultura. 2010. 43f. Trabalho de conclusão de curso (bacharelado - Ciências Econômicas) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências e Letras de Araraquara, 2010.
- FERRANDIN, G. Avaliação do potencial antioxidante e produção do fermentado alcoólico a partir do bagaço de maçã. 2014. 45f. Projeto referente ao trabalho de conclusão de curso para Bacharelado em Química, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2014.

- FERREIRA-DIAS, S.; SANDOVAL, G.; PLOU, F.; VALERO, F. The potential use of lipases in the production of fatty acid derivatives for the food and nutraceutical industries. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 16; p. 3, 2013.
- FLEURI, L. F. Resíduos como fontes diretas e indiretas de enzimas. Tese de livre docência – Universidade Estadual “Júlio de Mesquita Filho” – Instituto de Biociências, Botucatu, 2016.
- FLEURI, L. F.; NOVELLI, P. K.; DELGADO, C. H. O.; PIVETTA, M. R.; PEREIRA, M. S.; ARCURI, M. L. C.; CAPOVILLE, B. L. Biochemical characterization and application of lipases produced by *Aspergillus* sp. on solid-state fermentation using three substrates. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 49, p. 2585–2591, 2014a.
- FLEURI, L. F.; OLIVEIRA, M. C.; ARCURI, M. L. C.; CAPOVILLE, B. L.; PEREIRA, M. S.; OKINO-DELGADO, C. H.; NOVELLI, P. K. Production of fungal lipases using wheat bran and soybean bran incorporation of sugarcane bagasse as a co-substrate in solid-state fermentation. **Food Science and Biotechnology**, v. 23, n. 4, p. 1199–1205, 2014b.
- FOGLIA, T. A. e VILLENEUVE, P. *Carica papaya* latex-catalyzed synthesis of structured triacylglycerols. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 74, p. 1447– 450, 1997.
- FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Partial list of enzyme preparations that are used in foods. Washington, D.C.: U.S. Food and Drug Administration, Center of Food Safety and Applied Nutrition, Office of Food Additive Safety. Disponível em http://www.cfsan.fda.gov/_dms/opa-enz.html, acessado em Outubro de 2015.
- FREEMAN, H. M. Industrial pollution prevention handbook. Mc GrawHill, New York, p. 935, 1995.
- FRUTOS, A. R. B. Resistencia frente a la infección por *Penicillium digitatum* durante la postcosecha de los frutos cítricos. Bases moleculares y metabolismo de fenilpropanoides. 27/09/2007. 329f. Tesis para optar al grado de Doctor por la Universidad de Valencia, Espanha, 2007.
- GAGAOUA, M.; BOUCHERBA, N.; BOUANANE-DARENFED, A.; ZIANE, F.; NAIT-RABAH, S.; HAFID, K.; BOUDECHICHA, H. R. Three-phase partitioning as an efficient method for the purification and recovery of ficin from Mediterranean fig (*Ficus carica* L.) latex. **Separation and Purification Technology**, v. 132, p. 461–467, 2014.

- GIORDANI, R.; MOULIN, A.; VERGER, R. Tributylglycerol hydrolase activity in *Carica papaya* and other lattices. **Phytochemistry**, v. 30, p. 1069–1072, 1991.
- GOH, T. B.; KOH, R. Y.; YAM, M. F.; AZHAR, M. E.; MORDI, M. N.; MANSOR S. M. 5-Methoxytryptamine reacts with natural food flavour to produce 6-methoxy tetrahydro-b-carbolines: In vitro investigation of their antioxidant and cytotoxicity properties. **Food Chemistry**, v. 183, p. 208–216, 2015.
- GÖKBULUT, A. A.; KIRAZ, Y.; BARAN, Y. Cell Proliferation and Cytotoxicity Assays. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, 2016.
- GOLAKI, B. P.; AMINZADEH, S.; KARKHANE, A. A.; YAKHCHALI, B.; FARROKH, P.; KHALEGHINEJAD, S. H.; TEHRANI, A. A.; MEHRPOOYAN, S. Cloning, expression, purification, and characterization of lipase 3646 from thermophilic indigenous *Cohnella* sp. A01. **Protein Expression and Purification**, v. 109, p. 120–126, 2015.
- GOULA, A. M. e LAZARIDES, H. N. Integrated processes can turn industrial food waste into valuable food by-products and/or ingredients: The cases of olive mill and pomegranate wastes. **Journal of Food Engineering**, v. 167, p. 45–50, 2015.
- GUPTA, R. K.; PATEL, A. K.; SHAH, N.; CHOUDHARY, A. K.; JHA, U. K.; YADAV, U. C.; GUPTA, P. K.; PAKUWAL, U. Oxidative stress and antioxidants in disease and câncer: A review. **Asian Pacific Jornal of Cancer Prevention**, v. 15, p. 4405– 4409, 2014.
- GUSMÃO, R. O., FERRAZ, L. M., RÊGO, A. P. B., ASSIS, F. G. V., LEAL, P. L. Produção de enzimas por *Aspergillus* spp. sob fermentação em estado sólido em casca de café. **Scientia plena**, v. 10:11 – Disponível em: www.scientiaplenu.org.br, 2014.
- GUTARRA, M. L. E.; GODOY, M. G.; MAUGERI, F.; RODRIGUES, M. I.; FREIRE, D. M. G.; CASTILHO, L. R. Production of an acidic and thermostable lipase of the mesophilic fungus *Penicillium simplicissimum* by solid-state fermentation. **Bioresource Technology**, v. 100, p. 5249, 2009.
- HEBBAR, H. U.; SUMANA, B.; RAGHAVARAO, K. S. M. S. Use of reverse micellar systems for the extraction and purification of bromelain from pineapple wastes. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 4896–4902, 2008.
- HELENO, S. A.; MARTINS, A.; QUEIROZ, M. R. P.; FERREIRA, I. C. F. Bioactivity of phenolic acids: metabolites versus parent compounds: a review. **Food Chemistry**, v. 173, p. 501–513, 2015.

- HOMAEI, A. Enhanced activity and stability of papain immobilized on CNBr-activated sepharose. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 75, p. 373–377, 2015.
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística 2012. Disponível em www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/agropecuaria/, acessado em Julho de 2013.
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística 2015. Disponível em <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/prevsaf/default.asp?t=1&z=t&o=26&u1=1&u2=1&u3=1&u4=1>, acessado em Novembro de 2015.
- INFANTE, J.; SELANI, M. M.; TOLEDO, N. M. V.; SILVEIRA-DINIZ, M. F.; ALENCAR, S. M.; SPOTO, M. H. F. Atividade antioxidante de resíduos agroindústrias de frutas tropicais. **Brazilian Journal Food Nutrition**, v. 24, p. 87–91, 2013.
- IRANSHAHI, M.; REZAEI, R.; PARHIZ, H.; ROOHBAKHSH, A.; SOLTANI, F. Protective effects of flavonoids against microbes and toxins: The cases of hesperidin and hesperetin. **Life Sciences**, v. 137, p. 125–132, 2015.
- ISWARIYA, G. T.; SUGANYA, V.; PADMA, P. R.; NIRMALADEVI, R. Cytotoxic effect of *Citrus limetta* and *Citrus sinensis* on Molt-3 Cell Line. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research**, v. 41, p. 111–115, 2016.
- ITABAIANA JR, I.; MARIZ E MIRANDA, L. S.; SOUZA, R. O. M. A. Towards a continuous flow environment for lipase-catalyzed reactions (review). **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 85–86, p. 1–9, 2013.
- JBT – FoodTech – A leading supplier of integrated food processing solutions. Ready to help with all of your Citrus Processing needs, 2016. Disponível em <http://www.jbtfoodtech.com/en/Solutions/Processes/Citrus-Processing>, acessado em Julho de 2016.
- JBT – FoodTech – Procedures for analysis of citrus products, sixth edition, 2011. Disponível em <http://www.jbtfoodtech.com/en/Solutions/Applications/Citrus/Citrus-Procedures>, acessado em Julho de 2016.
- JINKA, R.; RAMAKRISHNA, V.; RAO, S.; RAO, R. P. Purification and characterization of cysteine protease from germinating cotyledons of horse gram. **BMC Biochemistry**, v. 10, p. 1–11, 2009.

- JOMORI, M. L. L. Métodos de desverdecimento pós-colheita de tangor ‘Murcott’ e laranja ‘Valência’. 2011.137f. Tese de Doutorado em Ciências Fitotécnicas – Universidade de São Paulo, Escola superior de agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2011.
- KAPOOR, M.; PANWAR, D.; KAIRA, G. S. Bioprocesses for enzyme production using agro-industrial wastes: Technical challenges and commercialization potential. **Agro-Industrial wastes as feedstock for enzyme production**, Elsevier, chapter 3, p. 61-83, 2016.
- KHAN, M. K.; HUMA, Z. E.; DANGLES, O. A comprehensive review on flavanones, the major citrus polyphenols. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 33, p. 85–104, 2014.
- KOBLITZ, M. G. B. Bioquímica dos alimentos: Teoria e prática. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 2, 2010.
- KONNO, K.; HIRAYAMA, C.; NAKAMURA, M.; TATEISHI, K.; TAMURA, Y.; HATTORI, M.; KOHNO, K. Papain protects papaya trees from herbivorous insects: role of cysteine proteases in latex. **Plant Journal**, v. 37, p. 370–378, 2004.
- KONWARH, R.; GOGOI, B.; PHILIP, R.; LASKAR, M. A.; KARAK, N. Biomimetic preparation of polymer-supported free radical scavenging, cytocompatible and antimicrobial “green” silver nanoparticles using aqueous extract of *Citrus sinensis* peel. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 84, p. 338–345, 2011.
- KOUTEU, P. A. N.; BARÉA, B.; BAROUH, N.; BLIN, J.; VILLENEUVE, P. Lipase activity of tropical oilseed plants for ethyl biodiesel synthesis and their typo- and regioselectivity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, n. 46, p. 8838–8847, 2016.
- KUONEN, R.; WEISSENSTEIN, U.; URECH, K.; KUNZ, M.; HOSTANSKA, K.; ESTKO, M.; HEUSSER, P.; BAUMGARTNER, S. Effects of Lipophilic Extract of *Viscum album* L. and Oleanolic Acid on Migratory Activity of NIH/3T3 Fibroblasts and on HaCat Keratinocytes. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, p. 1–7, 2013.
- LAGHA-BENAMROUCHE, S. e MADANI, K. Phenolic contents and antioxidante activity of Orange varieties (*Citrus sinensis* L. and *Citrus aurantium* L.) cultivated in Algeria: Peels and leaves. **Industrial Crops and Products**, v. 50, p. 723–730, 2013.

- LANSER, A. C.; MANTHEY, L. K.; HOU, C. T. Regioselectivity of new bacterial lipase determined by hydrolysis of triolein. **Current Microbiology**, v. 44, p. 336–340, 2002.
- LANZA, C. M. Processed and Derived Products of Oranges. Chapter of Citrus Fruits/Processed and Derived Products of Oranges, Elsevier Science Ltd., University of Catania, Catania, p.1346–1348, 2003.
- LEE, J. S.; HURR, B. M.; HUBER, D. J.; VALLEJOS, C. E.; SARGENT, S. A. Characterization of proteases and nucleases associated with ethylene-induced programmed cell death in immature cucumber fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 110, p. 190–196, 2015.
- LI, P. J.; XIA, J. I.; NIE, Z. Y.; SHAN, Y. Pectic oligosaccharides hydrolyzed from orange peel by fungal multi-enzyme complexes and their prebiotic and antibacterial potentials. **LWT – Food Science and Technology**, v. 69, p. 203–210, 2016.
- LIN, J-T.; LIU, S-C.; TSAY, G. J.; YANG, D-J. Composition of flavonoids and phenolic acids in *Glycin tomentella* Hayata cultivated in various soils. **Food Chemistry**, v. 121, p. 659–665, 2010.
- LOPES, D. B.; FRAGA, L. P.; FLEURI, L. F.; MACEDO, G. A. Lipase and esterase - to what extent can this classification be applied accurately? **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 31, p. 1, 2011a.
- LOPES, J. M. S; DÉO, T. F. G.; ANDRADE, B. J. M.; GIROTO, M.; FELIPE, A. L. S.; JUNIOR, C. E. I.; BUENO, C. E. M. S.; SILVA, T. F.; LIMA, F. C. C. Importância econômica do citros no Brasil. **Revista Científica Eletrônica de Agronomia**, v. 10, 2011b.
- MACEDO, G. A.; PASTORE, G. M.; PARK, Y. K. Partial purification and characterization of an extracellular lipase from a newly isolated strain of *Geotrichum* sp. **Revista Brasileira de Microbiologia**, v. 28, p. 90–95, 1997.
- MAHAJAN, R. T. e MADGUJAR, S. B. Biological aspects of proteolytic enzymes: a review. **Journal of Pharmacy Research**, v. 9, p. 2048–2068, 2010.
- MARTÍNEZ, R.; TORRES, P.; MENESES, M. A.; FIGUEROA, J. G.; PÉREZ-ÁLVAREZ, J. A.; VIUDA-MARTOS, M. Chemical, technological and *in vitro* antioxidant properties of mango, guava, pineapple and passion fruit dietary fibre concentrate. **Food Chemistry**, v. 135, p. 1520–1526, 2012.

- MARTINS, M. T. C. S.; PÔRTO, N. A.; CANUTO, M. F. S.; BRUNO, R. L. A. Composição química de sementes de espécies de *Manihot* Mill (Euphorbiaceae). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, p. 621–623, 2007.
- MATTOS JUNIOR, D. M.; DE NEGRI, J. D.; JORGINO, J. O. F.; JUNIOR, P. Citros: principais informações e recomendações de cultivo. **Boletim técnico 200**, Instituto Agrônômico de Campinas, 2005.
- MAZORRA-MANZANO, M. A.; MORENO-HERNÁNDEZ, J. M.; RAMÍREZ-SUAREZ, J. C.; TORRES-LLANEZ, M. J.; GONZÁLEZ-CÓRDOVA, A. F.; VALLEJO-CÓRDOBA, B. Sour orange *Citrus aurantium* L. flowers: A new vegetable source of milk-clotting proteases. **LWT- Food Science and Technology**, v. 54, p. 325–330, 2013.
- MEGHWANSI, K. G.; AGARWAL, L.; DUTT, K.; SAXENA, R. K. Characterization of 1,3-regiospecific lipases from new *Pseudomonas* and *Bacillus* isolates. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 40, p. 127–131, 2006.
- MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; LIMA V. L. A G.; NASCIMENTO, R. J. Capacidade antioxidante de frutas. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 44, p. 193–201, 2008.
- MELO, P. S.; BERGAMASCHI, K. B.; TIVERON, A. P.; MASSARIOLI, A. P.; OLDONI, T. L. C.; ZANUS, M. C.; PEREIRA, G. E.; ALENCAR, S. M. Composição fenólica e atividade antioxidante de resíduos agroindustriais. **Ciência Rural**, v. 41, p. 1088–1093, 2011.
- MENDES, A. A.; OLIVEIRA, P. C.; DE CASTRO, H. F. Properties and biotechnological applications of porcine pancreatic lipase. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 78, p. 119–134, 2012.
- MENDONÇA, L. M. V. L.; CONCEIÇÃO, A.; PIEDADE, J.; CARVALHO, V. D.; THEODORO, V. C. A. Caracterização da composição química e do rendimento dos resíduos industriais do limão Tahiti (*Citrus latifolia* Tanaka). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, p. 870–874, 2006.
- MHETRAS, N. C.; BASTAWDE, K. B.; GOKHALE, D. V. Purification and characterization of acidic lipase from *Aspergillus niger* NCIM 1207. **Bioresource Technology**, v. 100, p. 1486–1490, 2009.
- MIN, K. Y.; KIM, J. H.; LEE, K. A.; KIM, K. T.; PAIK, H. D. Antimicrobial activity of acid-hydrolyzed *Citrus unshiu* peel extract in milk. **Journal Dairy Science**, v. 97, p. 1955–1960, 2014.

- MIRANDA, I. K. S. P. B. Obtenção, caracterização e atividade antitumoral in vitro de bromelina de diferentes partes de abacaxizeiros. 2014. 78f. Dissertação de Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais – Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana – Bahia, 2014.
- MIRANDA, A. S.; MIRANDA, L. S. M.; SOUZA, R. O. M. A. Lipases: valuable catalysts for dynamic kinetic resolutions. **Biotechnology Advances**, v. 33, p. 372–393, 2015.
- MOLINA, G.; PRAZERES, J. N.; BALLUS, C. A. Aplicações de enzimas na indústria de alimentos. Capítulo de Biotecnologia de Alimentos, Coleção Ciência, tecnologia, engenharia de alimentos e nutrição, editora Atheneu, São Paulo, Rio de Janeiro e Belo Horizonte, v. 12, p. 343–363, 2013.
- NAKAO, K.; MURATA, K.; ITOH, K.; HANAMOTO, Y.; MASUDA, M.; MORIYAMA, K. Anti-hyperuricemia effects of extracts of immature *Citrus unshiu* fruit. **Journal of Traditional Medicines**, v. 28, p. 10–15, 2011.
- NASCIMENTO FILHO, W. B. e FRANCO, C. R. Potential assessment of waste produced through the agro-industrial processing in Brazil. **Química Nova**, v. 6, p. 1968–1987, 2015.
- NAWAR, W. W. Lipids. In R. O. Fennema (Ed.), **Food chemistry**, p. 225–320. Marcel Dekker, New York, 1996.
- NEETHU, C. S.; MUJEEB-RAHIMAN, K. M.; ROSMINE, E.; SARAMMA, A. V.; MOHAMED—ATHA, A. A. Utilization of agro-industrial wastes for the production of lipase from *Stenotrophomonas maltophilia* isolated from Arctic and optimization of physical parameters. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 4, p. 703–709, 2015.
- NEVES, K. C. S. Produção de proteases coagulantes por espécies de *Pleurotus* em resíduos vegetais da Amazônia. 19/03/2014. 97f. Tese de Doutorado em Biotecnologia – Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2014.
- NEVES, M. F.; TROMBIN, V. G.; MILAN, P.; LOPES, F. F.; CRESSONI, F.; KALAKI, R. O retrato da citricultura brasileira. Disponível em http://www.citrusbr.com/download/Retrato_Citricultura_Brasileira_MarcosFava.pdf, acessado em Julho de 2016.
- NOGUEIRA, F. M. S. Brasil e Estados Unidos: embate na OMC pelo suco de laranja. 2012. 49f. Monografia apresentada ao curso de graduação em Relações

- Internacionais da Faculdade de Economia da Fundação Armando Alvares Penteado, São Paulo, 2012.
- OBATA, T.; IWATA, H.; NAMBA, Y. Proteolytic enzyme from *Oerskovia* sp CK lysing viable yeast cells. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 41, n. 12, p. 2387–2394, 1977.
- OKINO-DELGADO, C. H. Obtenção, caracterização e aplicação de lipases vegetais – Utilizando subprodutos do processamento de laranja e manga para suco. 21/02/2014. 89f. Dissertação de Mestrado em Botânica - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Instituto de Biociências de Botucatu, 2014.
- OKINO-DELGADO, C. H. e FLEURI, L. F. Obtaining lipases from byproducts of orange juice processing. **Food Chemistry**, v. 163, p. 103–107, 2014.
- OKINO-DELGADO, C. H. E FLEURI, L. F. Orange and mango byproducts: agro-industrial waste as source of bioactive compounds and botanical versus commercial description - A review. **Food Reviews International**, v. 32, p. 1–14, 2016.
- OSATO, J. A.; SANTIAGO, L. A.; REMO, G. M.; CUADRA, M. S.; MORI, A. Antimicrobial and antioxidante activities of unripe papaya. **Life Science**, v. 53, p. 1383–1389, 1993.
- PALOCCI, C.; SORO, S.; CERNIA, E.; PASQUA, G. Lipolytic isoenzymes from *Euphorbia latex*. **Plant Science**, v. 165, n. 3, p. 577–582, 2003.
- PERES, R. S.; ARMELIN, E.; MORENO-MARTÍNEZ, J. A.; ALEMÁN, C.; FERREIRA, C. A. Transport and antifouling properties of papain-based antifouling coatings. **Applied Surface Science**, v. 341, p. 75–85, 2015.
- POZA, M.; SIEIRO, C.; CARREIRA, L.; BARROS-VALÁZQUEZ, J.; VILLA, T. G. Production and characterization of the milk clotting protease of *Myxococcus xanthus* strain 442. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 30, p. 691–698, 2003.
- QUETTIER, A. L. e EASTMOND, P. J. Storage oil hydrolysis during early seedling growth. **Plant Physiology and Biochemistry**, p. 485–490, 2009.
- QIU, C., ZHAO, M. E.; MCCLEMENTS, D. J. Improving the stability of wheat protein-stabilized emulsions: Effect of pectin and xanthan gum addition. **Food Hydrocolloids**, v. 43, p. 377–387, 2015.
- RAMAKRISHNA, V.; RAJASEKHAR, S.; REDDY, L. S. Identification and purification of metalloprotease from dry grass pea (*Lathyrus sativus* L.) seeds. **Applied Biochemistry Biotechnology**, v. 160, p. 63–71, 2010.

- RAO, M. B.; TANKSALE, A. M.; GHATGE, M. S.; DESHPANDE, V. V. Molecular and biotechnological aspects of microbial proteases. **Microbiology and Molecular Biology**, v. 62, p. 597–635, 1998.
- RASKOVIC, B.; POPOVIC, M.; OSTOJIC, S.; ANDELKOVIC, B.; TESEVIC, V.; POLOVIC, N. Fourier transform infrared spectroscopy provides an evidence of papain denaturation and aggregation during cold storage. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 150, p. 238–246, 2015.
- RODRIGUES, R. C. e FERNANDEZ-LAFUENTE, R. Lipase from *Rhizomucor miehei* as a biocatalyst in fats and oils modification. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 66, p. 15–32, 2010.
- ROWLEY, B.I. e BULL, A.T. Isolation of a yeast-lysing *Arthrobacter* species and production of the lytic enzyme complex in batch and continuous-flow fermentors. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 19, p. 879–899, 1977.
- SAGIROGLU, A. e ARABACI, N. Sunflower seed lipase: Extration, purification and characterization. **Preparative Biochemistry e Biotechnology**, v. 35, p. 37–51, 2005.
- SALAS, M. P.; CÉLIZ, G.; GERONAZZO, H.; DAZ, M.; RESNIK, S. L. Antifungal activity of natural and enzymatically-modified flavonoids isolated from citrus species. **Food Chemistry**, v. 124, p. 1411–1415, 2011.
- SANA, N. K.; HOSSIN, I.; HAQUE, E. M.; SHAHA, R. K. Identification, purification and characterization of lipase from germinating oil seeds (*Brassica napus L.*). **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v.2, n.7, p. 246–252, 2004.
- SANTOS, K. C.; CASSIMIRO, D. M. J.; AVELAR, M. H. M.; HIRATA, D. B.; CASTRO, H. F.; FERNÁNDEZ-LAFUENTE, R.; MENDES, A. A. Characterization of the catalytic properties of lipases from plant seeds for the production of concentrated fatty acids from diferente vegetable oils. **Industrial Crops and Products**, v. 49, p. 462–470, 2013.
- SANTOS, L. F. Produção, purificação, caracterização e estudo da aplicação de uma protease alcalina produzida por *Cellulosimicrobium cellulans* 191. 2004. 97f. Tese de Doutorado em Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.
- SANZ, L. C. e OLIAS, J. M. Characterization of lupin seed lipase. **Food Chemistry**, v. 37, p. 221–228, 1990.
- SEABRA, F.; DARÓS, L. L.; PEREIRA, M. F. A. ISO 14000 e a competitividade da indústria têxtil no Mercosul: o caso da Hering S.A. In: Simpósio internacional de

- qualidade ambiental: Gerenciamento de resíduos e certificação ambiental, v. 2, p. 2431, 1998.
- SHAHIDI, F. e ZHONG, Y. Lipid oxidation and improving the oxidative stability. **Chemical Society Reviews**, v. 39, p. 4067–4079, 2010.
- SHAHIDI, F. e ZHONG, Y. Measurement of antioxidante activity. **Journal of Funtional Foods**, v. 18, p. 757–781, 2015.
- SHARMA, R.; OBEROI, H. S.; DHILLON, G. S. Fruit and vegetable processing waste: Renewable feedstocks for enzyme prodution. *Agro-industrial wastes as feedstock for enzyme production*, Academic press, p. 23-59, 2016.
- SILVA, C. E. F.; GOIS, G. N. S. B.; SILVA, I. C. C.; SILVA, L. M. O.; ALMEIDA, R. M. R. G.; ABUD, A. K. S. Avaliação do potencial de uso do bagaço de laranja visando a produção de etanol 2G. **Congresso Brasileiro de Engenharia Química**, 2014a.
- SILVA, L. C. R. C. Desenvolvimento de estratégias analíticas para determinação de flavononas e psoraleno por CLAE-DAD em sucos de laranjas de diferentes procedências. 16/07/2009. 126f. Tese de Doutorado em Química, Programa de pós-graduação em química, Instituto de química – Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2009.
- SILVA, L. M. R.; FIGUEIREDO, E. A. T.; RICARDO, N. M. P. S.; VIEIRA, I. G. P.; FIGUEIREDO, R. W.; BRASIL, I. M.; GOMES, C. L. Quantification of bioactive compounds in pulps and by-products of tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 143, p. 398–404, 2014b.
- SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTOS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, v. 299, p. 152–178, 1999.
- SOARES, E. S.; SILVA, A. C.; QUEIROZ, F. S. E. A.; GOMES, J. E. G.; HERCULANO, P. N.; MOREIRA, K. A. Potencial do latex da fruta pão (*Artocarpus altilis*) como agente coagulante do leite. **Ciência Rural**, v. 45, n. 1, 2015.
- SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v. 15, p. 71–81, 2002.
- SOUSA, M. C. Avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos alcóolicos preparados a partir dos frutos (casca e polpa) de *Citrus sinensis* L Osbeck – variação pêra e navel – frente a bactérias e fungos patogênicos. 2013. 33f. Trabalho de

- Conclusão de Curso em Farmácia – Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2013.
- SPADA, L. Danos causados pela podridão floral dos citros em diferentes variedades de laranja doce. 28/10/2011. 28f. Dissertação de Mestrado em Fitossanidade – Fundo de Defesa da Citricultura, Araraquara, 2011.
- SUZUKI, T.; HONDA, Y.; MUKASA, Y. Purification and characterization of lipase in buckwheat seed. **Agricultural and Food Chemistry**. v. 52, p. 7407–7411, 2004.
- SWINGLE, W.T. The botany of citrus and its wild relatives. In: Reuther, W., Webber, H. J., Batchelor, L. D. (Ed.) The Citrus industry. 2^aed. Berkeley: University of California, v. 1, p. 190-430, 1967.
- TAN-WILSON, A.; BANDAK, B.; PRABU-JEYABALAN, M. The PA domain is crucial for determining optimum substrate length for soybean protease C1: Structure and kinetics correlate with molecular function. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 53, p. 27–32, 2012.
- TIMOFIECSYK, F. R. e PAWLOWSKY, U. Minimização de resíduos na indústria de alimentos: revisão. **B.CEPPA**, v. 18, p. 221–236, 2000.
- UMENO, A.; HORIE, M.; MUROTOMI, K.; NAKAJIMA, Y.; YOSHIDA, Y. Antioxidative and antidiabetic effects of natural polyphenols and isoflavones. **Molecules**, v. 21, p. 708, 2016.
- VALENTE, D. M. C. Pesquisa da atividade antioxidante em subprodutos alimentares. 2015. 57f. Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas, Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2015.
- VESCOVI, V. Extração, purificação e imobilização de lipases vegetais destinadas à síntese de biodiesel e ésteres. (2012) 79f. Dissertação de mestrado – Programa de Pós Graduação em Engenharia Química – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos – São Paulo, 2012.
- VIJAYAKUMAR, K. A. e GOWDA, L. R. Rice (*Oryza sativa*) lipase: Molecular cloning, functional expression and substrate specificity. **Protein Expression and Purification**, v. 88, 67–79, 2013.
- WADHWA, M. e BAKSHI, M.P.S. Utilization of fruit and vegetable wastes as livestock feed and as a substrate for generation of other value added products. In: Makkar, H.P.S. (Ed.), Food and Agriculture Organization of United Nations, v. 4, p. 56, 2013.

- WAN, J.; GUO, J.; MIAO, Z.; GUO, X. Reverse micellar extraction of bromelian from pineapple peel – Effect of surfactant structure. **Food Chemistry**, v. 197, p. 450–456, 2016.
- WANG, Y-C.; CHUANG, Y-C.; HSU, H-W. The flavonoid, carotenoid and pectin content in peels of citrus cultivated in Taiwan. **Food Chemistry**, v. 106, p. 277–284, 2008.
- WEERASOORIYA, M. K. B. e GUNASEKARA, O. S. W. Partially purified rubber seed lipase for eficiente removal of fatty soil. **Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka**, v. 39, n. 1, p. 69–76, 2011.
- WILKINS, M. R.; WIDMER, W. W.; GROHMANN, K.; CAMERON, R. G. Hydrolysis of grapefruit peel waste with cellulase and pectinase enzymes. **Bioresource Technology**, v. 98, p. 1596–1601, 2007.
- WOICIECHOWSKI, A. L.; CARVALHO, J. C.; SPIER, M. R.; HABU, S.; YAMAGUISHI, C. T.; GHIGGI, V.; SOCCOL, C. R. Emprego de resíduos agroindustriais em bioprocessos alimentares. Capítulo de Biotecnologia de Alimentos, Coleção Ciência, Tecnologia, Engenharia de alimentos e Nutrição, editora Atheneu, São Paulo, Rio de Janeiro e Belo Horizonte, v. 12, p. 143–172, 2013.
- ZHISHEN, J.; MENGCHENG, T.; JIANMING, W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. **Food Chemistry**, v. 64, p. 555–559, 1999.
- ZHOU, Z. Q. Citrus fruits nutrition. Beijing, China: Science Press, 2012.
- ZHU, Q.Y.; HACKMAN, R. M.; ENSUNSA, J. L.; HOLT, R. R.; KEEN, C. L. Antioxidative activities of oolong tea. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 50, p. 692–699, 2002.
- ZOU, Z.; XI, W.; HU, Y.; NIE, C.; ZHOU, Z. Antioxidant activity of Citrus fruits. **Food Chemistry**, v. 196, p. 885–896, 2016.