

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo deste trabalho será disponibilizado somente a partir de 20/02/2019.



INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS DE BOTUCATU
UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

**Resíduos de laranja como fonte direta de lipases: obtenção,
caracterização bioquímica e aplicações**

VALESCA CRISTIANE BENELLI FRANCISCO

BOTUCATU – SP

2017



INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS DE BOTUCATU
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA E BIOQUÍMICA
UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

**Resíduos de laranja como fonte direta de lipases: obtenção,
caracterização bioquímica e aplicações**

VALESCA CRISTIANE BENELLI FRANCISCO

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências, Câmpus de Botucatu, UNESP, como requisito para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia pelo programa de pós-graduação em Biotecnologia.

Orientadora: Prof^a Adj. Luciana Francisco Fleuri
Co-orientador: Prof Dr Willian Fernando Zambuzzi

BOTUCATU – SP

2017

Francisco, Valesca Cristiane Benelli.

Resíduos de laranja como fonte direta de lipases:
obtenção, caracterização bioquímica e aplicações em
educação corporativa como ferramenta de gestão do
conhecimento : um estudo de caso / Valesca Cristiane
Benelli Francisco , 2017
72 f.

Orientador: Luciana Francisco Fleuri

Willian Fernando Zambuzzi

Dissertação (Mestrado)-Universidade Estadual
Paulista. Instituto de Biociências, Botucatu, 2017

1. Lipase. 2. Hidrólise. 3. Esterificação. 4. Resíduos
de laranja. 5. Atividade biológica I. Universidade Estadual
Paulista. Instituto de Biociências. II. Título.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por tudo, sempre!

À minha família tão amada, Enrico, Maria Paula e Murilo, por todo apoio e compreensão.

Aos meus queridos pais e sogros, pelo suporte em todos os momentos.

À estimada professora Luciana Francisco Fleuri, por sua orientação, exemplo, amizade, confiança e estímulo no desenvolvimento deste trabalho.

Ao professor Willian Zambuzzi, pela co-orientação e à seus alunos Augusto Santana Nascimento e Célio Junior da Costa Fernandes por suas colaborações.

À professora Marcia Ortiz Mayo do departamento de Fitoquímica do I.A.C, pela parceria e Roselaine Facanali por suas colaborações.

À empresa J.B.T FoodTech de Araraquara, em especial à Daniela Kharfan pelo fornecimento dos resíduos de laranja para o desenvolvimento deste trabalho.

Às minhas parceiras e amigas de laboratório Mirella, Milene, Clarissa, Débora, Bruna e Júlia, pela amizade, paciência, cooperação e força que muito me ajudaram, vocês moram no meu coração!

À Fapesp (processo 2015/01753-8), Capes e CNPq, pelo auxílio financeiro fundamental para a realização deste trabalho.

Aos colegas do departamento de Química e Bioquímica do I.B da Unesp de Botucatu.

Sumário

Índice Geral

Resumo.....	7
Abstract	8
1. Introdução	9
Referências bibliográficas.....	10
2. Revisão bibliográfica.....	13
2. 1 Resíduos.....	13
2.2 Enzimas.....	15
2.2.1 Lipases, reações e aplicações	16
2.2.1.1 Reações de hidrólise e esterificação.....	16
2.2.1.2 Reações de interesterificação.....	18
2.3 Compostos lipídicos e atividades biológicas.....	19
3. Materiais e métodos.....	24
3.1 Obtenção dos resíduos de laranja pera.....	24
3.2 Concentração dos extratos enzimáticos das lipases dos resíduos de laranja	24
3.3 Determinação da atividade de hidrólise das lipases dos resíduos de laranja.....	25
3.4 Determinação da atividade de esterificação das lipases dos resíduos de laranja.....	25
3.5 Caracterização das lipases dos resíduos de laranja	26
3.5.1 Especificidade das lipases quanto ao tamanho de cadeia do substrato.....	26
3.5.2 Caracterização do perfil proteico dos extratos de lipase dos resíduos de laranja.....	26
3.5.3 Especificidade das lipases quanto à posição estereoquímica do ácido graxo.....	27
3.6 Aplicação das lipases.....	27
3.6.1 Modificação de óleos vegetais por reação de hidrólise	27

3.6.2 Reação de esterificação.....	28
3.6.3 Análise do perfil dos ácidos graxos obtidos nas reações	29
3.6.4 Determinação das atividades biológicas dos produtos de reação.....	30
3.6.4.1 Atividades antioxidantes.....	30
3.6.4.2 Atividades antimicrobianas.....	30
3.6.4.3 Análise da citotoxicidade / viabilidade celular por meio da redução do MTT.....	31
4. Análise estatística dos resultados.....	33
5. Resultados e discussões.....	33
5.1 Obtenção de lipases de resíduos de laranja	33
5.2 Caracterização das lipases dos resíduos de laranja	35
5.3 Aplicação das lipases de resíduos de laranja em reações de hidrólise e síntese.....	39
5.4 Análise das atividades biológicas dos produtos das reações das lipases.....	40
5.4 .1 Avaliação da atividade antioxidante.....	40
5.4.2 Avaliação da atividade antimicrobiana.....	41
5.4.3 Avaliação da citotoxicidade – viabilidade celular.....	43
5.5 Análise do perfil dos ácidos graxos obtidos nas reações de hidrólise e esterificação por lipases de laranja.....	49
6. Conclusão.....	57
7. Sugestões para trabalhos futuros.....	57
Referências bibliográficas.....	58

Índice das Figuras

Figura 1. Partes constitutivas da laranja, definições anatômicas e industriais.....	14
Figura 2. Representação esquemática das reações	19
Figura 3. Estrutura de ácidos graxos livres.....	20
Figura 4. Fluxograma dos experimentos.....	23
Figura 5. Extratos concentrados das frações residuais de laranja.....	24
Figura 6. Esquema experimental da avaliação de citotoxicidade.....	32

Figura 7. Atividade de hidrólise das lipases dos resíduos de laranja.....	34
Figura 8. Atividade de esterificação das lipases dos resíduos de laranja.....	35
Figura 9. Placa de SDS-Page / Caracterização proteica.....	37
Figura 10. Placa de regioespecificidade das lipases de resíduos de laranja e placa com padrões para regioespecificidade.....	38
Figura 11. Placa de inibição de crescimento bacteriano.....	42
Figura 12. Viabilidade celular dos produtos de hidrólise.....	45
Figura 13. Viabilidade celular dos produtos de esterificação.....	47
Figura 14. Viabilidade celular dos brancos de reação.....	48

Índice das tabelas

Tabela 1. Aplicação dos subprodutos de laranja.....	15
Tabela 2. Especificidade por tamanho de cadeia carbônica de ácido graxo.....	36
Tabela 3. % de hidrólise dos óleos vegetais pelas lipases de resíduos de laranja.....	39
Tabela 4. % de esterificação do ácido oleico com etanol pelas lipases de resíduos de laranja....	40
Tabela 5. Atividade antioxidante dos produtos de reação.....	41
Tabela 6. Atividade antibacteriana dos produtos de reação.....	42
Tabela 7. Perfil de ácidos graxos da hidrólise do óleo de oliva.....	50
Tabela 8. Perfil de ácidos graxos da hidrólise do óleo de milho.....	51
Tabela 9. Perfil de ácidos graxos da hidrólise do óleo de girassol.....	52
Tabela 10. Perfil de ácidos graxos da hidrólise do óleo de mamona.....	53
Tabela 11. Perfil de ácidos graxos da hidrólise do óleo de dende.....	54
Tabela 12. Perfil de ácidos graxos da esterificação do ácido oleico com etanol.....	55
Anexos.....	67

O processamento de suco de laranja gera grande volume residual, sendo este aproximadamente 50% do fruto. Esses resíduos contêm biomoléculas de interesse industrial tais como as lipases que são capazes de catalisar a hidrólise de glicerídeos e reações de síntese em condições micro-aquosas. A obtenção dessas enzimas diretamente de resíduos reduz os custos de produção e viabiliza diferentes aplicações. As lipases possuem características interessantes como a regioespecificidade e especificidade quanto aos tamanhos da cadeia carbônica de ácidos graxos, possibilitando a geração de produtos diferenciados. Desta forma, o presente trabalho visou, além da obtenção de lipases por meio resíduos de laranja Pera, a aplicação destas em reações capazes de promover mudanças nos substratos (lipídeos) a fim de se obter produtos diferenciados que possam apresentar atividades biológicas. Lipases foram obtidas dos resíduos de laranja Pera e caracterizadas como 1,3 específicas nas frações bagaço, casca e frit as quais apresentaram atividade lipolítica de 55,9 U/g; 58,0 U/g e 49,9 U/g, respectivamente; e da fração polpa como inespecífica com atividade de 40,4 U/g. Essas enzimas foram empregadas em reações de hidrólise e síntese com diferentes óleos vegetais e os produtos de reação analisados quanto às atividades biológicas. Foram observadas atividades antioxidante de até 94,87%; atividade antibacteriana sobre *E. coli*, *L. monocytogenes*, *P. aureginosa*, *S. enteritidis* e *S. aureus*, e influência sobre a viabilidade de células cancerígenas SCC9 (carcinoma bucal) de vários produtos de reação para todas as frações enzimáticas. Apresentaram majoritariamente ácidos linoleico, oleico e palmítico, sendo desta forma correlacionado à presença dessas substâncias de forma isolada ou sinérgica ao exercício das atividades biológicas.

Palavras-chave: lipase, hidrólise, esterificação, resíduos de laranja, atividade biológica.

The orange juice production process generates a large residual volume, approximately 50% of the fruit. These residues contain biomolecules of industrial interests such as lipases that are capable of catalyzing the hydrolysis of glycerides and synthesis reactions under micro-aqueous conditions. The obtainment of these enzymes directly from wastes reduces production costs and enables different applications. Lipases have interesting characteristics such as regiospecificity and fatty acids chain length specificity, enabling the generation of different products. Thus, this study aimed, in addition to obtaining lipases through orange Pera residue, the application of these enzymes in reactions that can promote changes in reaction substrates in order to obtain modified products that may have biological activities. Lipases were obtained from the orange Pera residues and characterized as 1,3 specific in the bagasse, peel and frit fractions, which presented lipolytic activity of 55.9 U/g; 58.0 U/g and 49.9 U/g, respectively and the pulp fraction as nonspecific with activity of 40.4 U/g. These enzymes were used in reactions of hydrolysis and synthesis with different vegetable oils and the reaction products analyzed for biological activities. Antioxidant activity of up to 94.87% was observed, with antibacterial activity on *E. coli*, *L. monocytogenes*, *P. aureginosa*, *S. enteritidis* and *S. aureus*, and influence on the viability of SCC9 (carcinogenic cells Buccal) of various reaction products for all enzymatic fractions. Presenting mainly linoleic, oleic and palmitic acids, being therefore correlated to the presence of these substances in an isolated or synergic way to the exercise of biological activities.

Keywords: lipase, hydrolysis, esterification, orange waste, biological activity.

1. Introdução

O Brasil possui a maior produção mundial de laranja sendo que desta produção aproximadamente 96% é usada no processamento de suco onde 50% do fruto torna-se resíduo (Alexandrino et al., 2007).

O grande volume de resíduos gerados pelo processamento de alimentos levanta um questionamento mundial de como podem ser aproveitados para diversos fins e o grande benefício ambiental obtido quando ocorre tratamento ou retirada destes do meio em que está poluindo (Forster-Carneiro et al., 2013).

Atualmente, o principal uso dos resíduos da laranja é como complemento para a ração animal. Entretanto, esses resíduos podem conter vários produtos de valor comercial (como enzimas) e, por isso, podem ser explorados para estes fins (Lohrasbi et al., 2010; Martínez et al., 2012).

As enzimas estão presentes em todos os tipos de célula, são eficientes catalisadores biológicos responsáveis por viabilizar inúmeras transformações celulares. Sua obtenção pode ser por meio de células animais, plantas e micro-organismos. O uso de vegetais para esta finalidade pode ser economicamente inviável e controverso, considerando o custo elevado desses produtos e a destinação para fins não alimentícios. Em contrapartida, a utilização de subprodutos agrícolas e agroindustriais constitui-se uma boa fonte dessas biomoléculas sem prejuízos para a cadeia produtiva de alimentos e com apelo de baixo custo (Castro, 2013; Fleuri et al., 2013; Fleuri, 2016).

A lipase (E.C. 3.1.1.3) (triacilglicerol lipase ou triacilglicerol acilhidrolase) encontra-se no grupo de enzimas que podem ser obtidas através de vegetais, incluindo resíduos, sendo que essas enzimas em meio aquoso catalisam a quebra da ligação éster do triglicerídeo (hidrólise) produzindo glicerol, ácidos graxos, diacilgliceróis e monoacilgliceróis. Também são capazes de catalisar outras reações e sob condições de baixa disponibilidade de água promove reação inversa à hidrólise, ou seja, a formação de ligações éster a partir de um álcool e um ácido carboxílico, denominada de esterificação (Castro et al., 2004; Barros et al., 2010; Fleuri et al., 2014).

Entre as características importantes dessas enzimas estão a regioespecificidade e afinidade por tamanho de cadeia do substrato, pois o perfil e a posição do ácido graxo liberado estão diretamente relacionados ao modo de ação enzimática (De Greyt e Kellens, 2001; Wang et al., 2006; Farfán et al., 2013). As lipases também são capazes de catalisar reações de interesterificação, nas quais os ácidos graxos de um triglicerídeo são removidos e redistribuídos dentro da mesma molécula ou entre moléculas

diferentes. Nesta reação a regioespecificidade da enzima é importante para designar onde ocorrerá a hidrólise das ligações ésteres que resultará em óleos e/ou gorduras com perfil peculiar de ácidos graxos e com diferentes propriedades físicas e químicas podendo tornar o produto mais atrativo do ponto de vista nutricional (De Greyt e Kellens 2001; Wang et al., 2006; Puligundla et al., 2012; Farfán et al., 2013).

O presente trabalho objetivou a obtenção a baixo custo de lipases oriundas de resíduos do processamento de suco de laranja da variedade Pera, que possuam características bioquímicas adequadas à aplicação em reações de hidrólise e síntese. Visou também a obtenção de produtos diferenciados quanto às atividades biológicas, visto que as reações citadas são eficazes para promover mudanças físico-químicas nas biomoléculas que alteram suas propriedades.

O efeito dessas frações lipídicas sobre as funções biológicas e celulares é pouco caracterizado, entretanto, bastante intrigante, representando uma lacuna a ser desvendada (Fleuri, 2016) sendo assim, os produtos obtidos podem apresentar atividades antioxidantes, antimicrobianas e sobre a viabilidade de diferentes células, as quais foram investigadas neste trabalho.

Referências bibliográficas

- ALEXANDRINO, A.M.; FARIA, H.G.; SOUZA, C.G.M.; PERALTA, R.M. Aproveitamento do resíduo de laranja para a produção de enzimas lignocelulolíticas por *Pleurotus ostreatus* (Jack:Fr). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.27, p.364-368, 2007.
- BARROS, M.; FLEURI, L.F.; MACEDO, G.A. Seed Lipases: Sources, Applications and Properties - A Review. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v.27, p15-29, 2010.
- CASTRO, R.J.S.; SATO, H.H. Synergistic effects of agroindustrial wastes on simultaneous production of protease and alfa-amylase under solidstate fermentation using a simplex centroid mixture design. **Industrial Crops and Products**, v. 49, p.813– 821, 2013.
- DE GREYT, W.F.J.; KELLENS, M.J. Improvement of nutritional and physicochemical properties in milk fat, in Structural and modified lipids (Gunstone, F. D., Ed. Marcel Dekker), New York, p. 285-312, 2001.

- FARFÁN, M.; VILLALÓN, M.J.; ORTÍZ, M.E.; NIETO, S.; BOUCHON, P. The effect of interesterification on the bioavailability of fatty acids in structured lipids. *Food Chemistry*, v.139, p.571–577, 2013.
- FLEURI, L. F. Resíduos como fontes diretas e indiretas de enzimas. Tese de Livre Docência. Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, São Paulo, 2016.
- FLEURI, L.F.; CASSANI, M.; ARCURI, M.; CAPOVILLE B.L.; PEREIRA M.S.; DELGADO C.O.; NOVELLI P. K. Production of fungal lipases in wheat bran and soybean bran and incorporation of sugarcane bagasse as a co-substrate in solid-state fermentation. *Food Science and Biotechnology*, v.1, p.1-15, 2014.
- FLEURI, L.F.; KAWAGUTI, H.Y.; PEDROSA, V.A.; VIANELLO, F.; LIMA, G.P.P.; NOVELLI, P.K.; DELGADO C.O. Exploration of Microorganisms Producing Bioactive Molecules of Industrial Interest by Solid State Fermentation. In: Giuseppina Pace Pereira Lima; Fábio Vianello. (Org.). *Food Quality, Safety and Technology. Led.: Springer-Verlag Wien*, v.1, 163p, 2013.
- FORSTER-CARNEIRO, T.; BERNI, M.D.; DORILEO, I.L.; ROSTAGNO, M.A. Biorefinery study of availability of agriculture residues and wastes for integrated biorefineries in Brazil. *Resources, Conservation and Recycling*, v. 77, p. 78–88, 2013.
- LOHRASBI, M.; POURBAFRANI, M.; NIKLASSON, C.; TAHERZADEH, M.J. Process design and economic analysis of a citrus waste biorefinery with biofuels and limonene as products. *Bioresource Technology*, v.101, n.19, p.7382-7388, 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.

PULIGUNDLA, P.; JUNG, J.; KO, S. Carbon dioxide sensors for intelligent food packaging applications. *Food Control*, v.25, p.328-333, 2012.

WANG, H.X.; WU, H.; HO, C.T.; WENG, X.C. Cocoa butter equivalent from enzymatic interesterification of tea seed oil and fatty acid methyl esters. *Food Chemistry*, v.97, p.661–665, 2006.

ZAGO, E.; BOTTON, V.; ALBERTON, D.; CÓRDOVA, J.; YAMAMOTO, C. I.; CÔCCO, L. C.; KRIEGER, N. (2014). Synthesis of ethylic esters for biodiesel purposes using lipases naturally immobilized in a fermented solid produced using *Rhizopus microsporus*. *Energy & Fuels*, 28(8), 5197-5203, 2014.

6. Conclusão

Do ponto de vista biotecnológico, os subprodutos do processamento de suco de laranja Pera, podem ser uma alternativa às lipases comerciais apresentando como vantagens, além do baixo custo e fácil obtenção, o acesso a produtos diferenciados.

Poucos estudos relatam atividades biológicas decorrentes de produtos de reações, sendo que a aplicação de lipases provenientes de resíduos nunca foi relatada anteriormente para esta finalidade, sendo uma estratégia inovadora.

Considerando o acesso da enzima e dos substratos utilizados, tem-se uma excelente alternativa para obtenção de ácidos graxos e outros compostos liberados durante as reações, que embora, ainda não tenham seu mecanismo de ação desvendado, demonstraram potencial para a exploração de suas atividades biológicas como antioxidantes, antitumorais e antibióticos.

Refêrências bibliográficas

- ABDELMOEZ, WAEL; MOSTAFA, N. A.; MUSTAFA, Ahmad. 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
- AK, T.; GÜLÇİN, İ. Antioxidant and radical scavenging properties of curcumin. *Chemico-biological Interactions*, v.174, n.1, p.27-37, 2008.
- ALEXANDRINO, A.M.; FARIA, H.G.; SOUZA, C.G.M.; PERALTA, R.M. Aproveitamento do resíduo de laranja para a produção de enzimas lignocelulolíticas por *Pleurotus ostreatus* (Jack:Fr). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.27, p.364-368, 2007.
- ANTUNES, D.; VIANA, V.; SANTOS, M.; SOARES, E.; BARBOSA, K.; MOURA, K.; ALMEIDA, R. Produção de bioetanol de segunda geração a partir do hidrolisado do albedo da laranja como fonte de biomassa lignocelulósica. *Blucher Chemical Engineering Proceedings*, v.1, n.2, 305-312, 2015.
- ARPAIA N, CAMPBELL C, FAN X, DIKIY S, VAN DER VEEKEN J, DEROOS P, LIU H, CROSS JR, PFEFFER K, COFFER PJ, RUDENSKY AY. Metabolites produced by commensal bacteria promote peripheral regulatory T-cell generation. *Nature Immunology* v 504, 451–455, 2013.
- BALAT, M.; BALAT, H.; OZ, C. Progress in bioethanol processing. *Progress in Energy and Combustion Science*, v. 34, n. 5, p. 551-573, 2008.
- BARROS M.; FLEURI L.F.; MACEDO G.A. Seed Lipases: Sources, Applications and Properties - A Review. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, v.27, 15-29, 2010.
- BRACKETT GM, LEWIS JB, KIOUS AR, MESSER RLW, LOCKWOOD PE, BRACKETT WW, WATAHA JC. 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.
- BUENO, FERNANDA GIACOMINI. Poincianella pluviosa: estudo da viabilidade celular e proliferação de fibroblastos e queratinócitos in vitro, e avaliação da atividade cicatrizante em ratos diabéticos e normoglicêmicos. Diss. *Universidade Estadual de Maringá*, 2014.
- CALADO C. R. C.; MONTEIRO S. M. S.; CABRAL J. M. S.; FONSECA L. P. Effect of prefermentation on the production of cutinase by a recombinant *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, v.93, p.354-359, 2002.

- CARDOSO, J.; SILVA, K.; GODOY, P.; SEOLATTO, A. Produção de etanol a partir do bagaço da laranja. *Blucher Chemical Engineering Proceedings*, v.1, n.1, p. 657-661, 2014.
- CARVALHO, P.O.; CAMPOS, P.R.B.; NOFFS, M.D.A.; OLIVEIRA, J.G.; SHIMIZU, M.T.; SILVA, D.M. Aplicação de lipases microbianas na obtenção de concentrados de ácidos graxos poliinsaturados. *Química Nova*, v.26, n.1, p.75-80, 2003.
- CASTRO, H. F.; MENDES, A.; DOS SANTOS, J.C.; AGUIAR, C.L. Modificação de óleos e gorduras por biotransformação. *Química Nova*, v. 27, n. 1, p. 146–156, 2004.
- CASTRO, R.J.S.; SATO H.H. Synergistic effects of agroindustrial wastes on simultaneous production of protease and alfa-amylase under solidstate fermentation using a simplex centroid mixture design. *Industrial Crops and Products*, v.49, p.813– 821, 2013.
- CHEN J., LINDMARK-MANSSON H., GORTON L., AKESSON B. Antioxidante capacity of bovine milk assayed by spectrophotometric and amperometric methods. *Int Dairy Journal*, v.13, p.927-935, 2003.
- CONSELHO DA COMUNIDADE EUROPEIA (EU) (1991) Diretriz 91/156/CEE de 18 de março de 1991. Disponível em: <http://eur-lex.europa.eu>, acessado em setembro de 2015.
- DE GREYT, W.F.J.; KELLENS, M.J. Improvement of nutritional and physicochemical properties in milk fat, in Structural and modified lipids (Gunstone, F. D., Ed. Marcel Dekker), New York, p.285-312, 2001.
- DE SOUZA QUEIROZ, K.C.; ZAMBUZZI, W.F.; DE SOUZA, A.C.S.; DA SILVA, R.A.; MACHADO, D.; JUSTO, G.Z.; FERREIRA, C.V. A possible anti-proliferative and anti-metastatic effect of irradiated riboflavin in solid tumours. *Cancer Letters*, v.258, n.1, p.126-134, 2007.
- DESBOIS, A.P.; SMITH, V.J. Antibacterial free fatty acids: activities, mechanisms of action and biotechnological potential. *Applied Microbiology Biotechnology*, v. 85, p. 1629–1642, 2010.
- DEVASENA T. Enzymology. 1º edição, Oxford. YMCA Library Building, Jai singh Road, New Delhi, 2010.
- DHAKE, K.P.; THAKARE, D.D.; BHANAGE, B.M. Lipase: A potential biocatalyst for the synthesis of valuable flavour and fragrance ester compounds. *Flavour and Fragrance Journal*, v.28, n.2, p.71-83, 2013.
- DILIKA, F.; BREMNER, P.D.; MEYER, J.J.M. Antibacterial activity of linoleic and oleic acids isolated from Helichrysum pedunculatum: a plant used during circumcision rites. *Fitoterapia*, v.71, n.4, p.450-452, 2000.
- DURGAM, VIJAYENDER RAO; FERNANDES, GABRIEL. The growth inhibitory effect of conjugated linoleic acid on MCF-7 cells is related to estrogen response system. *Cancer letters*, v. 116, n. 2, p. 121-130, 1997.

- EBRAHIMI, M. ET AL. Impact of different inclusion levels of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) fronds on fatty acid profiles of goat muscles. ***Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition***, v. 96, n. 6, p. 962-969, 2012.
- ELGAYYAR, M.; DRAUGHON, F.A.; GOLDEN, D.A.; MOUNT, J.R. Antimicrobial activity of essential oils from plants against selected pathogenic and saprophytic microorganisms. ***Journal of Food Protection***, v.64, n.7, p.1019-1024, 2001.
- EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo. Disponível em: http://www.cnpms.embrapa.br/grao/9_edicao/grao_em_grao_materia_02.htm, acessado em janeiro de 2017
- FARFÁN, M.; VILLALÓN, M.J.; ORTÍZ, M.E.; NIETO, S.; BOUCHON, P. The effect of interesterification on the bioavailability of fatty acids in structured lipids. ***Food Chemistry***, v.139, p.571–577, 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.
- FEDDERN, V.; DE SOUZA-SOARES, L.A.; XU, X. Chicken skin fat as raw-material for modifying lipids to high value diacylglycerol rich in pufa. In *III Symposium on Agricultural and Agroindustrial Waste Management*, 2013.
- FLEURI, L.F. Resíduos como fontes diretas e indiretas de enzimas. 2016. Tese (Livre Docência). Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho.
- FLEURI, L.F.; NOVELLI, P.K.; DELGADO, C.O.; PIVETTA, M.R.; PEREIRA, M.S.; ARCURI, M.; 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 & Technology***, v.1, p.1-18, 2014.
- GARÓFOLO, A.; PETRILLI, A.S. Omega-3 and 6 fatty acids balance in inflammatory response in patients with cancer and cachexia. ***Revista de Nutrição***, v.19, p.611-621, 2006.
- GOSWAMI, D.; BASU, J. K.; DE, S. Lipase applications in oil hydrolysis with a case study on castor oil: a review. ***Critical Reviews in Biotechnology***, v.33, n.1, p.81-96, 2013.
- GÜLÇİN, İ. Antioxidant activity of caffeic acid (3, 4-dihydroxycinnamic acid). ***Toxicology***, v.217, n.2, p.213-220, 2006.
- 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.5221-5249, 2009.

- HAMAM, F.; DAUN, J.; SHAHIDI, F. Lipase-assisted acidolysis of high-laurate canola oil with eicosapentaenoic acid. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v.82, n.12, p. 875-879, 2005.
- HARTMAN L; LAGO, R.C.A. Rapid preparation of fatty acid methyl from lipids. *Laboratory Practice*, v.22, n.3, p.475-473, 1973.
- HERNÁNDEZ, J.C. Patrimônio e globalização: o caso das culturas alimentares, capítulo de Antropologia e nutrição: um diálogo possível, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil, p.129-143, 2005.
- IDRIS, N.A.; MAT DIAN, L.H. Interesterified palm products as alternatives to hydrogenation. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, v.14, p. 396–401, 2005.
- ITABAIANA, I.; GONÇALVES, K.M.; CORDEIRO, Y.M.L.; ZOUMPANIOTI, M.; LEAL, I.C.R.; MIRANDA, L.S.M.; DE SOUZA, R.O.M.A.; XENAKIS, A. Kinetics and mechanism of lipase catalyzed monoacylglycerols synthesis. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, v. 96, p. 34–39, 2013.
- J.B.T. Food Tech (2013) Citros processing. Disponível em: www.jbtfoodtech.com/en/Solutions/Processes/Citrus-Processing, acessado em agosto de 2016.
- JIANG, Wen G.; BRYCE, Richard P.; HORROBIN, David F. Essential fatty acids: molecular and cellular basis of their anti-cancer action and clinical implications. *Critical reviews in oncology/hematology*, v. 27, n. 3, p. 179-209, 1998.
- JÚNIOR, A.A.J.; CHIARELLO, P.G.; BERNARDES, M.S.M.; VANNUCCHI, H. Peroxidação lipídica e etanol: papel da glutathione reduzida e da vitamina E. *Medicina (Ribeirão Preto. Online)*, v.31, n.3, p.434-449, 1998.
- KABARA, J. J., SWIECZKOWSKI, D. M., CONLEY, A. J., & TRUANT, J. P. Fatty acids and derivatives as antimicrobial agents. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, v. 2, n. 1, p. 23-28, 1972.
- 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, n.3, 224-229, 2004.
- KATO, T.; KOLENIC, N.; PARDINI, R.S. Docosahexaenoic acid (DHA), a primary tumor suppressive omega-3 fatty acid, inhibits growth of colorectal cancer independent of p53 mutational status. *HNUC*, v.58, p.178-187, 2008.
- KITAHARA, T.; AOYAMA, Y.; HIRAKATA, Y.; KAMIHIRA, S.; KOHNO, S.; ICHIKAWA, N.; HIGUCHI, S. In vitro activity of lauric acid or myristylamine in combination with six antimicrobial agents against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *International Journal of Antimicrobial Agents*, v.27, n.1, p.51-57, 2006.

- KLINKESORN, U.; H-KITTIKUN, A.; CHINACHOTI, P.; SOPHANODORA, P. Chemical transesterification of tuna oil to enriched omega-3 polyunsaturated fatty acids. ***Food Chemistry***, v.87, p. 415–421, 2004.
- KOBLITZ, M.G.B. Matérias-primas alimentícias, composição e controle de qualidade, Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, Brasil, 2011.
- LADANIYA, M. Citrus fruit – Biology, technology and evaluation. Elsevier Inc. San Diego, CA, 2009.
- LANZA, C.M. Processed and Derived Products of Oranges capítulo de Citrus Fruits/Processed and Derived Products of Oranges, ***Elsevier Science Ltda.***, p.1346-1348, 2003.
- LE PE, LOISON C, STRUYF S, SPRINGAEL JY, LANNOY V, DECOBECQ ME, BREZILLON S, DUPRIEZ V, VASSART G, VAN DJ, PARMENTIER M, DETHEUX M. Functional characterization of human receptors for short chain fatty acids and their role in polymorphonuclear cell activation. ***The Journal of Biological Chemistry*** v 278, 25481–25489, 2003.
- LEE, JOUNG-SOOK; LEE, SUNG-WOO. The studies of composition of fatty acids and antioxidant activities in parts of omija (*Schizandra chinensis* Baillon). ***Journal of the Korean Society of Food Culture***, v. 6, n. 2, p. 147-153, 1991.
- LERMA-GARCÍA, M. J., D'AMATO, A., SIMÓ-ALFONSO, E. F., RIGHETTI, P. G., & FASOLI, E. Orange proteomic fingerprinting: From fruit to commercial juices. ***Food chemistry***, 196, 739-749, 2016.
- LESUISSE, E.; SCHANCK, K.; COLSON, C. Purification and preliminary characterization of the extracellular lipase of *Bacillus subtilis* 168, an extremely basic pH-tolerant enzyme, ***European Journal of Biochemistry***, v. 216, p. 155–160, 1993.
- LIMA, L.A.R.S.; JOHANN, S.; CISALPINO, P.S.; PIMENTA, L.P.S.; BOAVENTURA, M.A.D. In vitro antifungal activity of fatty acid methyl esters of the seeds of *Annona 36 cornifolia* A.St.-Hil. (Annonaceae) against pathogenic fungus *Paracoccidioides brasiliensis*. ***Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical***, v. 44, n. 6, p. 777-780, 2011.
- LIU, Z.; CHI, Z.; WANG, L.; LI, J. Production, purification and characterization of an extracellular lipase from *Aureobasidium pullulans* HN2.3 with potential application for the hydrolysis of edible oils, ***Biochemical Engineering Journal***, v. 40, p. 445-451, 2008.
- 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, n.1, 2011.
- LUHRS H, GERKE T, MULLER JG, MELCHER R, SCHAUBER J, BOXBERGE F, SCHEPPACH W, MENZEL T. Butyrate inhibits NF-kappaB activation in lamina propria macrophages of patients with ulcerative colitis. ***Scandinavian Journal Gastroenterology*** v 37, 458–466, 2002.

- MA, I.V.; MOURADIAN, M.; SORRETA, A.G.; KANG, S.; PARDINI, R.S. Decreasing omega-6 to omega-3 polyunsaturated fatty acid dietary ratios inhibit tumorigenesis in prostate cancer cells in vitro and in vivo. **Cancer Research**, v.75, n.15, p.906-906, 2015.
- MACE TA, KING SA, AMEEN Z, ELNAGGAR O, YOUNG G, RIEDL KM, SCHWARTZ SJ, CLINTON SK, KNOBLOCH TJ, WEGHORST CM, LESINSKI GB. Bioactive compounds or metabolites from black raspberries modulate T lymphocyte proliferation, myeloid cell differentiation and Jak/STAT signaling. **Cancer Immunology Immunotherapy** v. 63, 889–900, 2014.
- 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.
- MAHADIK, N. D.; PUTAMBEKAR, U.S.; BASTAWDE, K.B.; KHIRE, J.M.; GOKHALE, D.V. Production of acidic lipase by *Aspergillus niger* in solid state fermentation. **Process Biochemistry**, v.38, p.715-721, 2002.
- MARTINS, E.S. Purificação de poligalacturonases termoestáveis produzidas pelo fungo *Thermoascus aurantiacus* através de fermentação submersa e fermentação em estado sólido e caracterização bioquímica das mesmas. Tese apresentada ao Instituto de Biociências de campos de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, para obtenção do título de doutor em ciências biológicas, p. 132, 2006.
- MEQHWANSHI, G.K.; 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, n.3, p. 27-131, 2006.
- MEZNI, F.; MAAROUFI, A.; MSALLEM, M.; BOUSSAID, M.; KHOUJA, M.L.; KHALDI, A. Fatty acid composition, antioxidant and antibacterial activities of *Pistacia lentiscus* L. fruit oils. **Journal of Medicinal Plants Research**, v.6, n.39, p.5266-5271, 2012.
- MILLARD AL, MERTES PM, ITTELET D, VILLARD F, JEANNESSON P, BERNARD J. Butyrate affects differentiation, maturation and function of human monocyte-derived dendritic cells and macrophages. **Clinical & Experimental Immunology** v 130, 245–255, 2002.
- MORIN, C.; ROUSSEAU, E.; FORTIN, S. Anti-proliferative effects of new docosapentaenoic acid and monoacylglyceride in colorectal carcinoma cells. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v.89, p.203–213, 2013.
- MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assay. **Journal of Immunological. Methods**, v.65, p. 55–63, 1983.

- MOTTA, A. S.; BRANDELLI, A. Characterization of an antibacterial peptide produced by *Brevibacterium linens*. **Journal of Applied Microbiology**, v.92, n.1, p. 63-70, 2002.
- MUCIDA D, PARK Y, KIM G, TUROVSKAYA O, SCOTT I, KRONENBERG M, CHEROUTRE H. Reciprocal TH17 and regulatory T cell differentiation mediated by retinoic acid. **Science Immunology** v 317, 256–260, 2007.
- NARASIMHAN, B.; MOURYA, V.; DHAKE, A. Design, synthesis, antibacterial, and QSAR studies of myristic acid derivatives. **Bioorganic Medicina. Chemistry Letters**, v.16, p.3023-3029, 2006.
- NICOLAOU A, MAURO C, URQUHART P, MARELLI-BERG F. Polyunsaturated Fatty Acid-derived lipid mediators and T cell function. **Front Immunology**, 5-75, 2014.
- O`SHEA, N.; ARENDT, E. K.; GALLAGHER, E. Dietary fibre and phytochemical characteristics of fruit and vegetable by-products and their recent applications as novel ingredients in food products. **Innovative Food Science and Emerging Technologies** v.16, p.1–10, 2012.
- O`FALLON, J. V.; BUSBOOM, J.R.; NELSON, M.L.; GASKINS, C.T. A direct method for fatty acid methyl ester synthesis: application to wet meat tissues, oils, and feedstuffs. **Journal of Animal Science**, v.85, n.6, p.1511-1521, 2007.
- OKINO-DELGADO, C.H.; FLEURI, L.F. Obtaining lipases from byproducts of orange juice processing. **Food chemistry**, v.163, p.103-107, 2014.
- OLIVEIRA, C.; ROSA, M.F. Enzymatic Transesterification of Sunflower Oil in an Aqueous Oil Biphase System. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.83, n.1, p.21-25, 2006.
- OLIVEIRA, N. A. J., CECCHI, C. R., HIGUTI, E., BARTOLINI, P., & PERONI, C. N. Enriquecimento de queratinócitos secretores de mGH em células-tronco mediante adesão rápida ao colágeno. In 56 **Congresso Brasileiro de Genética** pp. 287-287 2014.
- ÖZTÜRK, M., DURU, M. E., KIVRAK, Ş., MERCAN-DOĞAN, N., TÜRKÖGLÜ, A., & ÖZLER, M. A. In vitro antioxidant, anticholinesterase and antimicrobial activity studies on three *Agaricus* species with fatty acid compositions and iron contents: A comparative study on the three most edible mushrooms. **Food and Chemical Toxicology**, 49(6), 1353-1360, 2011.
- PARK, J.; CHO, S-Y.; CHOI, S-J. Purification and characterization of hepatic lipase from *Todarodes pacificus*, **BMB reports**, v. 41(3), p. 254-258, 2008.
- PERDOMO, L.; BENEIT, N.; OTERO, Y.F.; ESCRIBANO, Ó.; DÍAZ-CASTROVERDE, S.; GÓMEZ-HERNÁNDEZ, A.; BENITO, M. Protective role of oleic acid against cardiovascular insulin resistance and in the early and late cellular atherosclerotic process. **Cardiovascular diabetology**, v.14, n.1, p.1-12, 2015.

- PEREIRA, E.B.; ZANIN, G.M.; CASTRO, H.F. Immobilization and catalytic properties of lipase on chitosan for hydrolysis and esterification reactions. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v.20, n.4, p.343-355, 2003.
- PEREIRA, L. C.; SOUZA, A.O.; PAZIN, M.; DORTA, D.J. Mitocôndria como alvo para avaliação de toxicidade de xenobiótico. **Revista Brasileira de Toxicologia**, v.25, n.1, p.1-14, 2012.
- REINEHRA, C. O., RIZZARDIA, J., SILVA, M. F., OLIVEIRA, D., TREICHEL, H., & COLLA, L. A. Produção de lipases de *Aspergillus niger* e *Aspergillus fumigatus* através de fermentação em estado sólido, avaliação da especificidade do substrato e seu uso em reações de esterificação e alcoólise. **Quim. Nova**, 37(3), 454-460, 2014.
- REZZADORI, K.; BENEDETTI, S. Proposições para valorização de resíduos do processamento do suco de laranja. In: **International Workshop Advances in Cleaner Production**, p. 1-11, 2009.
- RIBEIRO, A.P.B.; GRIMALDI, R.; GIOIELLI, L.A.; GONÇALVES, L.A. Zero trans fats from soybean oil and fully hydrogenated soybean oil: physico-chemical properties and food applications. **Food research international**, v.42, n.3, p.401-410, 2009.
- RODRIGUES, J.N.; GIOIELLI, L.A. Chemical interesterification of milkfat and milkfat-corn oil blends *International Food Research*, v.36, p. 149–159, 2003.
- RUCHI, Gaur; ANSHU, Gupta; KHARE, S. K. Lipase from solvent tolerant *Pseudomonas aeruginosa* strain: Production optimization by response surface methodology and application. **Bioresource technology**, v. 99, n. 11, p. 4796-4802, 2008.
- RUIZ-RODRIGUEZ, A.; REGLERO, G.; IBÁÑES, E. Recent trends in the advanced analysis of bioactive fatty acids. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 51, p. 305– 326, 2010.
- SALEM, N.JR. Introduction to polyunsaturated fatty acids. **Backgrounder** , v.3, n.1, p.1-8, 1999.
- SÁ-PEREIRA, P.; DUARTE, J.C.; FERRARA, M.A.; LACERDA, P.S.B.; ALVES, F.C. Biocatálise: Estratégias de inovação e criação de mercados. **Enzimas em Biotecnologia: Produção, Aplicações e Mercado. Interciência**, p. 433-462, 2008.
- SIDDIQUI, R.A.; HARVEY, K.A.; ZALOGA, G.P. Modulation of enzymatic activities by n-3 polyunsaturated fatty acids to support cardiovascular health. **The Journal of nutritional biochemistry**, v.19, p.417-437, 2008.
- SILVA, C.; GOIS, G.; SILVA, I.; SILVA, L.; ALMEIDA, R.; ABUD, A. Avaliação do potencial de uso do bagaço de laranja visando a produção de etanol 2g. **Blucher Chemical Engineering Proceedings**, v.1, n.2, p.1139-1146, 2015.
- SILVEIRA, P. D. S. Avaliação do Potencial Antitumoral e do Mecanismo de Ação do Ditelureto de Difenila em diferentes linhagens de Glioblastomas, 2015.

- SIMOPOULOS, A.P. Genetic Variants in the Omega-6 and Omega-3 Fatty Acid Metabolic Pathways. *Nutrigenomics and Nutrigenetics in Functional Foods and Personalized Nutrition*, 83p, 2016.
- SKULAS-RAY, A.C.; KRIS-ETHERTON, P.M.; HARRIS, W.S.; HEUVEL, J.P.V.; WAGNER, P.R.; WEST, S.G. Dose-response effects of omega-3 fatty acids on triglycerides, inflammation, and endothelial function in healthy persons with moderate hypertriglyceridemia. *The American Journal of Clinical Nutrition*, v.93, p.243-252, 2011.
- TALUKDER, M.M.R.; TAMALAMPUDY, S.; LI, C.J.; LE, Y.L.; WU, J.C.; KONDO, A. An improved method of lipase preparation incorporating both solvent treatment and immobilization onto matrix. *Biochemical Engineering*, v.33, p.60–65, 2007.
- VIDAL, W.N.; VIDAL, M.R.R. Botânica organografia – Quadros sinóticos ilustrados de fanerógamos. Editora UFV – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2006.
- VINOLO MA, FERGUSON GJ, KULKARNI S, DAMOULAKIS G, ANDERSON K, BOHLOOLY Y, STEPHENS L, HAWKINS PT, CURI R. SCFAs induce mouse neutrophil chemotaxis through the GPR43 receptor. *PLoS One* v 6, 201-205, 2011.
- WANG, H.X.; WU, H.; HO, C.T.; WENG, X.C. Cocoa butter equivalent from enzymatic interesterification of tea seed oil and fatty acid methyl esters. *Food chemistry*, v.97, n.4, p.661-665, 2006.
- XUE, Z.; SHARPE, P.L.; HONG, S.P.; YADAV, N.S.; XIE, D.; SHORT, D.R.; POLLAK, D.W. Production of ômega-3 eicosapentaenoic acid by metabolic engineering of *Yarrowia lipolytica*. *Nature Biotechnology*, v.31, n.8, p.734-740, 2013.
- YAN, H.D.; ZHANG, Q.; WANG, Z. Biocatalytic synthesis of short-chain flavor esters with high substrate loading by a whole-cell lipase from *Aspergillus oryzae*. *Catalysis Communications*, v.45, p.59-62, 2014.
- YFF, B.T.; LINDSEY, K.L.; TAYLOR, M.B.; ERASMUS, D.G.; JÄGER, A.K. The pharmacological screening of *Pentania prunelloides* and the isolation of the antibacterial compound palmitic acid. *J. Ethnopharmacol.*, v.79, p.101-107, 2002.
- ZAGO, E., BOTTON, V., ALBERTON, D., CÓRDOVA, J., YAMAMOTO, C. I., CÔCCO, L. C. & KRIEGER, N. (2014). Synthesis of ethylic esters for biodiesel purposes using lipases naturally immobilized in a fermented solid produced using *Rhizopus microsporus*. *Energy & Fuels*, 28(8), 5197-5203, 2014.
- ZHU, Q.Y.; HACKMAN, R.M.; ENSUNSA, J.L.; HOLT, R.R.; KEEN, C.L. Antioxidative activities of oolong tea. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.50, p. 692-699, 2002.