

# CAPÍTULO 1

## APLICAÇÃO DE TECNOLOGIA EMERGENTE NA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS

---

*Data de submissão: 09/08/2023*

*Data de aceite: 02/10/2023*

### **Luana de Araújo Nogueira Santiago**

Universidade Federal do Tocantins-UFT  
Palmas - Tocantins  
<http://lattes.cnpq.br/8692598507249516>

### **Luana Regina Pereira Alves**

Universidade Federal do Tocantins-UFT  
Palmas - Tocantins  
<http://lattes.cnpq.br/1225108605600848>

### **Raphael Sanzio Pimenta**

Universidade Federal do Tocantins-UFT  
Palmas - Tocantins  
<http://lattes.cnpq.br/6513910004717747>

### **Glêndara Aparecida de Souza Martins**

Universidade Federal do Tocantins-UFT  
Palmas - Tocantins  
<http://lattes.cnpq.br/5998926336408017>

### **Beatriz Rodrigues Santa Rosa**

Universidade Federal do Tocantins-UFT  
Palmas – Tocantins  
<https://lattes.cnpq.br/6263052491361800>

### **Alex Fernando de Almeida**

Universidade Federal do Tocantins-UFT  
Palmas - Tocantins  
<http://lattes.cnpq.br/3042922895338679>

### **Antônio José de Sousa Caminha**

Universidade Federal do Tocantins-UFT  
Palmas – Tocantins  
<http://lattes.cnpq.br/2647162881176317>

### **Elisangela Santos Reis de Oliveira**

Universidade Federal do Tocantins-UFT  
Palmas – Tocantins  
<http://lattes.cnpq.br/9806120763323839>

### **Ana Karla Rodrigues Dos Santos**

Universidade Federal do Tocantins-UFT  
Palmas - Tocantins  
<http://lattes.cnpq.br/6022052230588791>

### **Jucimara Silva**

Universidade Federal do Tocantins-UFT  
Palmas – Tocantins  
<http://lattes.cnpq.br/7587227064682345>

### **Maria Luciana Barbosa Mendes**

Universidade Federal do Tocantins-UFT  
Palmas – Tocantins  
<http://lattes.cnpq.br/1924429289781505>

**RESUMO:** Uma gama de enzimas produzidas industrialmente possui aplicação na produção, conservação e modificação de produtos animais e vegetais, como na produção de alimentos, medicamentos e na produção de derivados de matérias-primas animais e vegetais, como por exemplo, os bioativos. Esses compostos bioativos, também são amplamente utilizados na indústria, contemplando a possibilidade de aplicação em produtos como leite, bebidas

variadas, carnes e também de panificação e podem ser extraídos por meio de aplicação de enzimas. Existem alguns fatores que podem afetar a atividade enzimática, como a temperatura, pH e concentração de substrato. Nesse sentido, cada técnica enzimática para obtenção de compostos bioativos possui uma metodologia. A utilização de enzimas para obtenção de compostos bioativos tem se destacado, o que requer novos estudos para enfim estabelecer-se comercialmente. Em contrapartida, o processo enzimático apresenta alguns gargalos que necessita de estudos e planejamento, pois é um processo de alto custo, uma vez que é necessária a produção e purificação das enzimas a serem aplicadas e suas condições devem ser bem delimitadas, uma vez que enzimas são altamente sensíveis e atuam em faixa de temperatura e pH específicos.

**PALAVRAS-CHAVE:** Aplicação Enzimática; Bioativos; Tecnologia Emergente.

## APPLICATION OF EMERGING TECHNOLOGY IN THE EXTRACTION OF BIOACTIVE COMPOUNDS

**ABSTRACT:** A range of industrially produced enzymes are used in the production, conservation and modification of animal and vegetable products, such as in the production of food, medicines and in the production of derivatives of animal and vegetable raw materials, such as bioactives. These bioactive compounds are also widely used in industry, contemplating the possibility of application in products such as milk, various beverages, meats and also bakery and can be extracted through the application of enzymes. There are some factors that can affect enzymatic activity, such as temperature, pH and substrate concentration. In this sense, each enzymatic technique for obtaining bioactive compounds has a methodology. The use of enzymes to obtain bioactive compounds has been highlighted, which requires further studies to finally establish itself commercially. On the other hand, the enzymatic process presents some bottlenecks that require studies and planning, since it is a high cost process, since the production and purification of the enzymes to be applied is necessary and its conditions must be well delimited, since enzymes are highly sensitive and act in a specific temperature and pH range.

**KEYWORDS:** Enzymatic Application; Bioactives; Emerging Technology.

## INTRODUÇÃO

A enzima é um catalisador biológico que desempenha um papel essencial no processo de aceleração das reações bioquímicas em organismos vivos (ROBINSON, 2015). Um catalisador que tem o potencial de promover reações de hidrólise, oxidação e de síntese (TIANFEI, 2020).

A aplicação comercial das enzimas é consideravelmente vasta e de fundamental importância, haja vista as inúmeras possibilidades de utilização nos processos como um eficiente catalisador (ROBINSON, 2015).

Sob essa perspectiva, estuda-se sobre as suas variadas aplicações, como a tecnologia baseada na utilização de enzimas. Segundo TIANFEI (2020), entende-se como tecnologia enzimática, a catálise formada pela utilização de microrganismos para produzir enzimas, isso pode ocorrer também pela adição das mesmas em um recipiente de reação

específico. A aplicação desse tipo de tecnologia demonstra a alta eficiência e segurança nos processos.

Além disso, são alternativos consideravelmente mais sustentáveis no processo de obtenção de extratos bioativos, especialmente, os direcionados para a indústria de alimentos (GRUZ *et al.*, 2013). Cientificamente, esses compostos bioativos são substâncias que possuem atividade biológica (GUAADAUI *et al.*, 2014).

Esses compostos bioativos, também são amplamente utilizados na indústria, contemplando a possibilidade de aplicação em produtos como leite, bebidas variadas, carnes e também de panificação. Tecnicamente, essa alternativa permite que as indústrias tenham maior abrangência nas aplicações, com o intuito de reformular produtos variados, aumentando a oferta de produtos mais saudáveis e suprir a demanda comercial (CHAGAS *et al.*, 2020).

Considerando os processos tradicionais, a principal etapa para obter compostos bioativos é por meio da metodologia de extração, a adesão está associada principalmente em virtude do alto rendimento e custos de produção relativamente baixos. Entretanto, existem métodos mais eficientes e sustentáveis que são considerados não convencionais, como a extração por ultrassom, pulso elétrico e micro-ondas. Haja vista a sua eficiência, os métodos tradicionais são agregados a tecnologias para proporcionar melhores resultados (LARLOS-CRUZ *et al.*, 2019).

Uma dessas tecnologias amplamente utilizadas encontra-se a tecnologia enzimática. Quanto a esta técnica, é essencial que a indústria opte por métodos que atendam de forma equilibrada alguns requisitos como a eficiência do processo, a qualidade do produto, os custos e que sejam alternativas mais sustentáveis (WEN *et al.*, 2020).

Em virtude da alta demanda nos setores de alimentos, farmacêuticos e nutracêuticos percebe-se a intensificação e necessidade de extrair bioativos utilizando métodos variados, com o intuito de obter um composto puro e com melhores rendimentos. Dentre muitas alternativas utilizadas durante esse processo, encontra-se a opção por enzimas. Considerando a extração a partir de um material vegetal, essas enzimas auxiliam na liberação desses bioativos, garantindo um procedimento otimizado e eficiente. Mesmo que as tecnologias enzimáticas para obtenção de compostos bioativos já sejam utilizadas há muitos anos, ainda assim, percebe-se a importância em aperfeiçoar algumas técnicas com o intuito de reduzir o tempo gasto durante o processo, aumentar o rendimento e tornar os custos do método mais vantajoso (MARATHE *et al.*, 2019).

Pensando nisso, algumas técnicas enzimáticas foram desenvolvidas e são constantemente estudadas com o intuito de melhorar as condições dos processos para obtenção de bioativos, a título de exemplo, a extração assistida por enzima (EAE), extração enzimática assistida por ultrassom (UAEE), extração supercrítica assistida por enzima (EASCFE), extração assistida por enzima por líquidos iônicos (ILEAE) e extração enzimática assistida por alta pressão (HPAEE). Essas alternativas comprovam a efetividade quanto

a melhores rendimentos dos compostos extraídos, redução de custos nos processos, redução no tempo de execução e também, é uma garantia de metodologia sustentável (MARATHE *et al.*, 2019).

## **ENZIMAS UTILIZADAS EM PROCESSOS DE EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS**

Uma gama de enzimas produzidas industrialmente possui aplicação na produção, conservação e modificação de produtos animais e vegetais, como na produção de alimentos, medicamentos e na produção de derivados de matérias-primas animais e vegetais, como por exemplo, os bioativos.

Enzimas como, celulases, pectinases e proteases são as principais proteínas que atuam na degradação de compostos como paredes celulares de plantas e vegetais. Esta degradação facilita a extração de compostos bioativos (BEG *et al.*, 2001; BHANJA *et al.*, 2008; LI *et al.*, 2006).

A celulase é a terceira enzima mais utilizada em escala industrial. Possui potencial para aplicação no processamento de algodão, alimentos, nas indústrias de papel, bem como na alimentação animal e na produção de detergentes, além de serem utilizadas na produção de etanol a partir da biomassa. Essas enzimas são formadas por várias unidades de glicose unidas entre si através de ligações químicas, responsáveis pela degradação da celulose, principal composto presente nas células vegetais, tendo três enzimas como parte desse grupo: endoglucanases, exoglucanases e beta-glicosidases. (CASTRO & PEREIRA, 2010; ZANCHETTA, 2012; GUEIROS *et al.*, 2020).

As pectinases formam um grupo de enzimas que degradam substâncias pécicas, ou seja, elas quebram a pectina, um polissacarídeo encontrado na parede celular vegetal, por meio de reações de hidrólise, transeliminção e desesterificação. São produzidas por plantas, fungos filamentosos, bactérias e leveduras, e algumas das aplicações destas enzimas nas indústrias de alimentos incluem amadurecimento de frutas, clarificação e redução de viscosidade em sucos de frutas. (SANTI *et al.*, 2014; FAVELA-TORRES *et al.*, 2005).

Dentre as enzimas de interesse comercial, as proteases têm como principal função a quebra de ligações peptídicas entre os aminoácidos das proteínas em reações de clivagem de proteínas, atuando nas suas ligações peptídicas e agindo por meio da hidrólise. Algumas características das proteases podem as classificá-las em diferentes grupos, essas características incluem: sob qual pH a atividade da protease ocorre de maneira mais eficiente, as substâncias presentes em seu sítio ativo, em quais tipos de ligações químicas ou em qual local da ligação irão ocorrer as clivagens realizadas por cada protease. Como fonte, as proteases podem ser encontradas em plantas, animais e microrganismos. Em plantas geralmente essas enzimas se encontram no látex e nas sementes dos vegetais.

(CHEN *et al*, 2021; KERMASHA & ESKIN, 2021).

## MECANISMOS DE AÇÃO ENZIMÁTICA PARA EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS

O mecanismo de extração por enzimas é uma técnica amplamente utilizada para auxiliar no processo de quebra de ligações complexas dos compostos bioativos presentes nos materiais vegetais. As etapas do mecanismo consistem na ligação da enzima ao substrato, através do sítio ativo, formando um complexo denominado enzima-substrato. Após essa complementação ocorrem algumas alterações na estrutura da enzima, na qual facilitam as reações químicas, resultando na conversão do substrato em produto. Com a liberação do produto do sítio ativo, a enzima estará disponível para iniciar novas reações (PACHECO & MENDES, 2021).

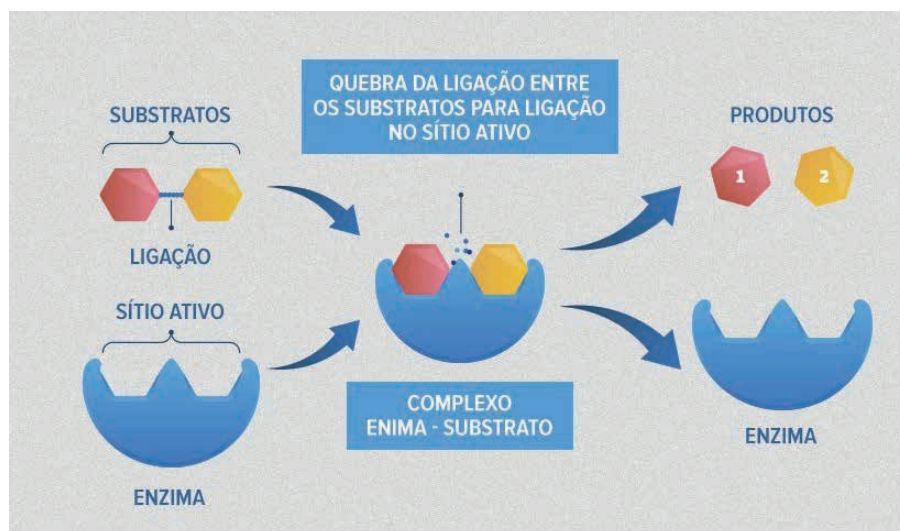


Figura 1 – Mecanismo de ação da enzima

Fonte: TANAKA (2019).

Existem alguns fatores que podem afetar a atividade enzimática, como a temperatura, o pH, a concentração de substrato. A atividade enzimática também pode ser afetada pelas alterações de concentração, conforme a concentração aumenta, aumenta a taxa de reação e os inibidores, a presença deles podem afetar a atividade enzimática, haja vista que podem se ligar de forma reversível ou irreversível as enzimas, afetando a capacidade de catalisar uma reação, ou de se ligar a um substrato. Cada enzima possui características específicas e diferentes fatores podem ter efeitos variados (PACHECO & MENDES, 2021; WEN *et al.*, 2019).

O mecanismo de extração por enzimas é uma técnica amplamente utilizada para

auxiliar no processo de quebra de ligações complexas dos compostos bioativos presentes nos materiais vegetais. As enzimas envolvidas no processo são intituladas de enzimas hidrolíticas ou degradativas, elas possuem a capacidade de quebrar ligações químicas específicas que são encontradas nos vegetais. Cada enzima possui a sua especificidade para cada tipo de ligação química que ela é compatível de quebrar (CHENG *et al.*, 2015).

Tais enzimas possibilitam o aumento da permeabilidade celular, auxiliando no rompimento das ligações químicas da parede celular, tornando-as mais solúveis e conseqüentemente, favorecendo a extração dos compostos bioativos. Esse processo proporciona uma maior eficiência catalítica, e ao mesmo tempo, preserva a efetividade original dos produtos naturais (CHENG *et al.*, 2015).

Neste contexto, cada técnica enzimática para obtenção de compostos bioativos possui uma metodologia. Uma das tecnologias enzimáticas é a extração assistida por enzimas, que é considerada uma técnica não convencional, e tem sido uma alternativa viável, haja vista a sua seletividade e por ser ambientalmente correta. Durante o processo, as enzimas hidrolíticas rompem as paredes celulares, a rede formada por polissacarídeos, como a hemicelulose, pectina, celulose e lignina, e conseqüentemente, tornando possível a liberação dos compostos bioativos (PATIL *et al.*, 2021; SONG *et al.*, 2020).

Essa ruptura ocorre com a ligação entre o sítio ativo da enzima que possui maior especificidade e a parede celular, ocasionando a interação, isso ocorre devido a enzima alterar a sua forma possibilitando o encaixe do substrato no sítio ativo. Enquanto acontece a liberação dos compostos, as alterações ocorridas no aspecto da enzima quebram as ligações da parede celular (LEAL *et al.*, 2023).

Segundo MARATHE *et al.* (2019), a parede celular dos vegetais é constituída sobretudo de pectina, hemicelulose e celulose, que são consideradas as principais barreiras para a extração dos bioativos. As metodologias associadas a técnicas enzimáticas são fundamentais, uma vez que, as enzimas degradam esses componentes da parede celular, deste modo, permitindo a liberação dos compostos. Durante esse processo, a interação enzima-substrato é consideravelmente importante, uma vez que essa interatividade irá determinar a extensão da hidrólise dessas barreiras existentes.

## **APLICAÇÕES DAS ENZIMAS NA ÁREA DO TEMA**

O aproveitamento de resíduos da indústria de alimentos, através da inserção de novos processos integrados, permite aliar a produtividade com a eficiência ambiental. As indústrias de alimentos, em especial as processadoras de frutas e hortaliças, geram elevados volumes de subprodutos e resíduos potencialmente ricos em substâncias de alto valor nutricional e funcional. Dentro desse contexto, a utilização de enzimas como pré-tratamento para a extração de substâncias de interesse comercial vêm se destacando na área farmacêutica e alimentícia (KOSSEVA, 2009; ARVANITTOYANNIS; VARZAKAS, 2008).

Há na literatura diferentes estudos voltados para aplicações de enzimas em extração de bioativos, como recuperação de bioativos a partir do bagaço de uva, ativo extraído de gengibre por meio de enzimas específicas, bem como a utilização de enzimas para obtenção de óleos essenciais. (CASSINI, 2010; GRUZ *et al*, 2013; SANTOS, 2018)

Como elucidado por QUEIROZ (2012), os compostos bioativos são nutrientes com ação metabólica ou fisiológica específica. Estas substâncias podem ser extraídas de plantas, frutas e vegetais, o que explica o fato da grande maioria das enzimas utilizadas em processos de extração de bioativos serem do grupo das celulases, responsáveis pela degradação da celulose, principal composto presente nas células vegetais. Na tabela 1 pode se observar quais os grupos de enzimas mais utilizados na área de bioativos e quais compostos foram extraídos.

Compostos bioativos	Enzimas utilizadas	Autores
Antioxidantes na folha e na flor de <i>Feijoa sellowiana</i>	Glicosil-hidrolase	Dacoreggio et al (2018)
Compostos fenólicos e atividade antioxidante na casca de romã.	Celulases e pectinases	Alexandre et al. (2019)
Antocianinas presentes na espécie <i>Akebia trifoliata</i>	Celulases e pectinases	Jiang et al. (2020)
Cafeína	Endo-beta-glucanase; xilanase e hemicelulase	Carvalho, Gabriel (2020).
Carotenóides na espécie <i>Portunus segnis</i>	Proteases	Hamdi et al (2020)

**Tabela 1:** Estudo de enzimas aplicadas em processos de extração de compostos bioativos.

**Fonte:** Levantamento bibliográfico feito pelos autores (2023).

## INOVAÇÃO NO TEMA

As tecnologias são amplamente aplicadas em diferentes segmentos, e podem ser classificadas como tecnologias convencionais e não convencionais ou emergentes. As convencionais, que são aquelas amplamente adotadas devido ao uso confiável, contemplam a extração à base de solventes orgânicos, com possibilidade alternativa de utilização de agitação e aquecimento. As não convencionais ou emergentes são aquelas que prezam pela redução ou não utilização de solventes orgânicos, minimização de gasto de energia e valorizam a preservação ambiental. Além desses fatores, as tecnologias emergentes têm despertado grande interesse das indústrias e comunidade científica, isso porque essas alternativas tecnológicas reduzem a degradação dos compostos bioativos presentes nos vegetais, em virtude de a utilização das temperaturas serem consideravelmente menores, bem como, a redução do tempo de extração (JUSTINO *et al.*, 2022).

A utilização de enzimas para obtenção de compostos bioativos tem se destacado, o que requer novos estudos para enfim estabelecer-se comercialmente. Essas tecnologias

enzimáticas notoriamente possuem estratégias eficazes e com isso tem sido modificadas e praticadas por pesquisadores nos últimos anos. As sugestões de aperfeiçoamento das técnicas reduzem alguns dos desafios que são impostos pela extração convencional. O uso das enzimas possibilita um rendimento superior ao esperado e também, como já mencionado, reduz o tempo de extração. Um ponto promissor de pesquisa é a determinação de interações enzimáticas, bem como a condição de estabilidade durante o processo. Acredita-se que por meio da biotecnologia e métodos modernos, é possível desenvolver novas enzimas com funcionalidades complementares, um grande potencial do futuro, haja vista as inúmeras pesquisas na área (MARATHE *et al.*, 2019).

Essas condições inovadoras referentes ao tema estão diretamente relacionadas às alternativas viáveis, ambientalmente corretas, constantemente associadas a técnicas verdes. Algumas dessas técnicas enzimáticas possuem benefícios como a minimização da periculosidade de síntese química, solventes consideravelmente mais seguros, redução do tempo e de etapas, extrações eficazes, reduz a poluição e utilização de matéria prima renovável. Os estudos voltados para as fontes de compostos bioativos são promissores, e essas técnicas inovadoras proporcionam a extração eficiente atendem aos requisitos almejados (SANTOS & SANTANA, 2022).

## DESAFIOS

Com a crescente demanda industrial por aproveitamento de resíduos e subprodutos que possam ser utilizados de forma a contribuir para uma produção econômica e sustentável, Carvalho (2020) relata que novas tecnologias vêm sendo desenvolvidas a fim de potencializar o aproveitamento de compostos de interesse nas indústrias de alimentos, cosméticos e farmacêuticos. Conforme explica Cheng *et al.*, (2015), a extração por enzimas é uma técnica utilizada na quebra das ligações fortes das substâncias que compõem os bioativos que se misturam com proteínas, pectina, amido e celulose na matriz vegetal. As enzimas favorecem a permeabilidade da parede celular; assim, possibilita que os rendimentos de extração de compostos bioativos sejam satisfatórios, podendo remover os componentes desnecessários das paredes celulares, preservando assim a eficácia original dos produtos naturais.

Recentemente, houve um aumento de pesquisas com o uso de enzimas para melhorar o rendimento na obtenção de compostos bioativos, como ácidos graxos insaturados (NGUYEN *et al.*, 2020) e em diversos óleos vegetais (HU *et al.*, 2020; SOUZA *et al.*, 2020). A extração aquosa com uso de enzimas apresenta-se como um processo mais seguro aos manipuladores e à saúde dos consumidores, por não utilizar outros solventes além da água, além de gerar danos mínimos em relação à contaminação do meio ambiente.

Em contrapartida, o processo enzimático apresenta alguns gargalos que necessita de estudos e planejamento, pois é um processo de alto custo, uma vez que é necessária a



produção e purificação das enzimas a serem aplicadas e suas condições devem ser bem delimitadas, uma vez que enzimas são altamente sensíveis e atuam em faixa de temperatura e pH específicos. Outro fator preponderante é a desnaturação enzimática que pode ocorrer devido a temperaturas elevadas, o que pode acarretar também o comprometimento da qualidade e na ação bioativas dos compostos. (CHENG *et al.*, 2015; ZHANG *et al.*, 2020; DEY *et al.*, 2016).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A aplicação de enzimas para extração de bioativos está recebendo grande destaque em dimensão laboratorial, especialmente analisando as vantagens como redução do tempo de extração e melhores rendimentos dos produtos, requerendo o mínimo de solventes. Entretanto, a aplicação de enzimas é um processo de alto custo, uma vez que é necessária a produção e purificação das enzimas a serem aplicadas e suas condições devem ser bem delimitadas, visto que estas substâncias são altamente sensíveis e atuam em faixa de temperatura e pH específicos. Dessa forma, se faz necessário um planejamento prévio para o uso dessa tecnologia aplicada aos bioativos.

## REFERÊNCIAS

Carvalho, Gabriel. **Extração aquosa enzimática de compostos bioativos do grão de café verde e torta residual da extração por prensagem mecânica.** Universidade Federal de Lavras Tese (Doutorado) - 2020.

CASSINI, Juliane. **Utilização de enzimas para a obtenção de óleos essenciais e cumarinas da casca de citrus latifolia tanaka.** Dissertação (Mestrado) – Universidade de Caxias do Sul, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, 2010.

CASTRO, A. M.; PEREIRA JR, N. **Produção, propriedades e aplicação de celulasas na hidrólise de resíduos agroindustriais.** Química Nova, v. 33, n. 1, p. 181-188, 2010.

CHAGAS, A. A. A.; RIBEIRO-SANTOS, R.; NASCIMENTO, K. O.; SANTANA, R. F.; AZEREDO, D. R. P.; CARLOS, R. A. **Bioactive compounds of interest to the food industry: properties, applications and perspectives for the consumer market.** Research Society and Development, v.9, n. 10, p. e3469108094, 2020. Disponível em: <https://www.rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/8094>. Acesso em: 07 jul. 2023.

CHEN, Y. et al. **Sesame water-soluble proteins fraction contains endopeptidases and exopeptidases with high activity: a natural source for plant proteases.** Food Chemistry, p. 129519, 2021.

CHENG, X.; BI, L.; ZHAO, Z.; CHEN, Y. **Advances in Enzyme Assisted Extraction of Natural Products. In: 3rd International conference on material, mechanical and manufacturing engineering (IC3ME 2015).** Atlantis Press, 2015. p. 371-375. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.2991/ic3me-15.2015.72>. Acesso em: 16 jul. 2023.

FAVELA-TORRES E. et al. Pectinases. In: **Enzyme technology**. New Delhi: Asiatech publisher; p. 273–296. 2005

GRUZ, A, P; SOUZA, C,G; TORRES, A,G; FREITAS, S, P. CABRAL, L, M. **RECUPERAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS A PARTIR DO BAGAÇO DE UVA**. Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal - SP, v. 35, n. 4, p. 1147-1157, Dezembro 2013

GRUZ, A. P. G.; SOUSA, C. G. S.; TORRES, A. G.; FREITAS, S. P.; CABRAL, L. M. C. **Recuperação de compostos bioativos a partir do bagaço de uva**. Revista Brasileira de Fruticultura, v. 35, p. 1147-1157, 2013. Disponível em: [scielo.br/j/rbf/a/tVS6ZKgCJthm4bsZZDpFyzB/?format=pdf&lang=pt](https://scielo.br/j/rbf/a/tVS6ZKgCJthm4bsZZDpFyzB/?format=pdf&lang=pt). Acesso em: 05 jul. 2023.

GUAADAOU, A.; BENAICHA, S.; ELMAJDOUB, N.; BELLAOU, M.; HAMAL, A. **What is a bioactive compound? A combined definition for a preliminary consensus**. International Journal of Nutrition and Food Sciences, v. 3, n. 3, p. 174-179, 2014. Disponível em: <https://citeseerx.ist.psu.edu/>. Acesso em: 05 jul. 2023.

HAMD, M. et al. **Development of novel high-selective extraction approach of carotenoproteins from blue crab (Portunus segnis) shells, contribution to the qualitative analysis of bioactive compounds by HR-ESI-MS**. Food Chemistry, [Kidlington], v. 302, Jan. 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31419773/>. Acesso em: 29 jul. 2023.

HU, B. et al. **Oil extraction from tiger nut (Cyperus esculentus L.) using the combination of microwave-ultrasonic assisted aqueous enzymatic method - design, optimization and quality evaluation**. Journal of Chromatography A, [Amsterdam], v. 1627, Sept. 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0021967320306579>. Acesso em: 22 out. 2023.

JUSTINO, H. D. F. M.; CUNHA, J. S., PACHECO, A. F. C., PACHECO, F. C., MARTINS, C. C. N., PAIVA, P. H. C.; JÚNIOR, B. R. D. C. L. **Uso de tecnologias não convencionais para extração de compostos bioativos de subprodutos de frutas e vegetais: revisão**. Research, Society and Development, v. 11, n. 14, p. e44111435488-e44111435488, 2022. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/35488>. Acesso em: 06 jul. 2023.

KERMASHA, S.; ESKIN, M. N. Enzymes. In: KERMASHA, S.; ESKIN, M. N. **Enzymes Novel Biotechnological Approaches for the Food Industry**. 1 ed. Cambridge: Academic Press, 2021. cap 2, 2021, páginas 15-44.

LARIOS&CRUZ, R.; LONDOÑO-HERNÁNDEZ, L.; GÓMEZ&GARCÍA, R.; GARCÍA-GALINDO, I.; SEPULVEDA, L.; RODRÍGUEZ-HERRERA, R.; AGUILAR, C. N. **Extraction of bioactive molecules through fermentation and enzymatic assisted technologies**. High Value Fermentation Products: Human Health, v. 1, p. 27-59, 2019. Disponível em: <https://doi-org.ez6.periodicos.capes.gov.br/10.1002/9781119460053.ch2>. Acesso em: 08 jul. 2023.

LEAL, G. F.; SARAIVA, L.S.; SILVA, R.R.; MACENA, M.A.; OLIVEIRA, J. E.B.; PRADO, G.M. SANTINONI, G. F. D.; LIMA, R. A. F. **Extração assistida por enzimas de compostos bioativos de frutos: uma revisão**. Florianópolis, SC: Instituto Scientia, 2023.

MARATHE, S. J.; JADHAY, S. B.; BANKAR, S. B.; DUBEY, K. K.; SINGHAL, R. S. **Improvements in the extraction of bioactive compounds by enzymes**. Current Opinion in Food Science, v. 25, p. 62-72, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214799318301474>. Acesso em: 07 jul. 2023.

NGUYEN, H. C. et al. **Aqueous enzymatic extraction of polyunsaturated fatty acid-rich sachinchi (*Plukenetia volubilis* L.) seed oil: An eco-friendly approach.** LWT - Food Science and Technology, [Amsterdam], v. 133, Nov. 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643820309816>. Acesso em: 12 nov. 2023.

PACHECO, T. F.; MENDES, T. D. **Guia prático para caracterização de enzimas.** Brasília, DF: Embrapa Agroenergia, 2021.

PATIL, P. D.; PATIL, S. P.; KELKAR, R. K.; PATIL, N. P.; PISE, P. V.; NADAR, S. S. **Enzyme-assisted supercritical fluid extraction: An integral approach to extract bioactive compounds.** Trends in Food Science and Technology, v. 116, p. 357–369, 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924224421004775>. Acesso em: 07 jul. 2023.

ROBINSON, P. K. **Enzymes: principles and biotechnological applications.** Essays in biochemistry, v. 59, p. 1, 2015. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4692135/>. Acesso em: 05 jul. 2023.

SANTI, L.; BERGER, M.; SILVA, W. **PECTINASES E PECTINA: APLICAÇÃO COMERCIAL E POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO.** Caderno pedagógico, Lajeado, v. 11, n. 1, p. 130-139, 2014. ISSN 1983-0882.

SANTOS, T. R. J.; SANTANA, L. C. L. D. A. **Conventional and emerging techniques for extraction of bioactive compounds from fruit waste.** Brazilian Journal of Food Technology, v. 25, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1981-6723.13021>. Acesso em: 18 jul. 2023.

SANTOS, Tailane Caína. **EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS DE *Zingiber officinale* Roscoe E AVALIAÇÃO DA SUA ATIVIDADE FRENTE A FATORES DE VIRULÊNCIA DE *Staphylococcus aureus*.** Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal de Sergipe. Lagarto, 2018.

SONG, Y. R.; HAN, A. R.; PARK, S. G.; CHO, C. W.; RHEE, Y. K.; HONG, H. D. **Effect of enzyme-assisted extraction on the physicochemical properties and bioactive potential of lotus leaf polysaccharides.** International Journal of Biological Macromolecules, v. 153, p. 169–179, 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813019376500>. Acesso em: 12 jul. 2023.

TANAKA, N. **Enzimas.** Todo Estudo, 2019. Disponível em: <https://www.todoestudo.com.br/biologia/enzimas>. Acesso em: 15 jul. 2023.

TIANFEI, D. Application of enzyme technology in food processing and testing. In: IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. IOP Publishing, p. 052066, 2020. Disponível em: <https://iopscience.iop.org/article/10.1/>. Acesso em: 05 jul. 2023.

WEN, L.; ZHANG, Z.; SUN, D. W.; SIVAGNANAM, S. P.; TIWARI, B. K. **Combination of emerging technologies for the extraction of bioactive compounds.** Critical Reviews in Food Science and Nutrition, v. 60, n.11, p. 1826-1841, 2020. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10408398.2019.1602823>. Acesso em: 14 jul. 2023.

ZHANG, J. et al. **Recent advances in the extraction of bioactive compounds with subcritical water: A review.** Trends in Food Science and Technology, [England], v. 95, p. 183-195, Jan. 2020a. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924224419303668>. Acesso em: 18 jul. 2023.