

EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR ENZIMAS DE COMPOSTOS BIOATIVOS DE FRUTOS: UMA REVISÃO

Gabriela Fonsêca Leal, Larissa Santos Saraiva, Romilda Ramos da Silva, Mariana Alencar da Macena, José Eduardo Bento de Oliveira, Geovana Marinho do Prado, Greice Folis Dagostin Santinoni, Roze Anne Ferreira Lima, Catarina Francisca Morais Lima Carvalhinho, Camila Mariane Silva Soares, Sergio Andres Villalba Morales, Patrícia Martins Guarda, Glêndara Aparecida de Souza Martins

RESUMO: Não é um conhecimento recente que as frutas são mais que alimentos, possuem em si compostos que têm funcionalidades múltiplas e atuam no organismo. As frutas chamam a atenção dos consumidores por sua variedade de espécies com cores intensas, porém, não somente por sua aparência e sabor que as frutas são consumidas, nelas estão presentes compostos capazes de prevenir e tratar doenças como os polifenóis, carotenoides, vitaminas e esteróis. Esses compostos estão presentes nos tecidos vegetais, os bioativos podem estar tanto nas membranas intracelulares das células vegetais quanto na matriz extracelular ligados a parede celular e espaços intracelulares a extração assistida por enzimas (EAE) é um método usado principalmente como substituto às técnicas convencionais de extração por solvente. Seu mecanismo de forma básica, baseia-se na capacidade de uma enzima ou um conjunto de enzimas possuem de degradar ou só alterar a parede celular das plantas liberando acesso mais fácil aos compostos alvo. Dessa forma, a presente revisão buscou na literatura publicações que estudaram a extração de compostos bioativos de frutas usando a técnica EAE como ferramenta para obtê-los. As seções dispõem da explicação do método de funcionamento da metodologia, suas vantagens e desvantagens, sua aplicação em extração de bioativos de frutas e aplicações industriais do método.

Palavras-chave: extração assistida por enzimas, compostos bioativos, metodologia verde

INTRODUÇÃO

Nos tempos atuais, a busca por uma alimentação mais saudável e que disponha de benefícios a manutenção da saúde tem sido constante. Entretanto, não é um conhecimento recente que as plantas e frutas são mais que alimentos, possuem em si compostos que têm funcionalidades múltiplas e atuam no organismo (ALAVARSA-CASCALES et al., 2022; GONZÁLEZ et al., 2022). Os benefícios dos alimentos foram registrados em escrituras antigas antes mesmo do período pré-histórico, Hipócrates considerado o pai da medicina já relatava a 2500 anos os alimentos como remédio (DAS; NADAR; RATHOD, 2021; OKOLIE et al., 2019).

As frutas chamam a atenção dos consumidores por sua variedade de espécies com cores intensas, que vão desde verde, amarelo, laranja, vermelho, roxo e até preto (ALAVARSA-CASCALES et al., 2022; GONZÁLEZ et al., 2022; MIRANDA et al., 2021). Porém, não somente por sua aparência e sabor que as frutas são consumidas, nelas estão presentes compostos capazes de prevenir e tratar doenças como os polifenóis, carotenoides, vitaminas e esteróis. Que dispõem de ação antioxidante, anti-inflamatória, antimicrobiana, antidiabética e anticancerígena (ARAUJO et al., 2021; DAS; NADAR; RATHOD, 2021).

Esses compostos estão presentes nos tecidos vegetais, os bioativos podem estar tanto nas membranas intracelulares das células vegetais quanto na matriz extracelular ligados a parede celular e espaços intracelulares, ligados por interações hidrofílicas ou ligações de hidrogênio com os compostos de que formam a estrutura das paredes vegetais como a pectina, celulose ou hemicelulose (RAFIŃSKA et al., 2022). No entanto, extrair esses compostos e estabilizá-los é fundamental. As metodologias convencionais se baseiam principalmente no uso de solvente orgânicos para extrair os bioativos e usam de muito tempo para tal processo. Como forma de melhorar esse processo, técnicas verdes e uso de solventes ecologicamente corretos têm sido aplicados (CÁDIZ-GURREA et al., 2020).

Como uma das técnicas mais recentes e ecológicas, a extração assistida por enzimas (EAE) é um método usado principalmente como substituto às técnicas convencionais de extração por solvente. Seu mecanismo de forma básica, baseia-se na capacidade de uma enzima ou um conjunto de enzimas possuem de degradar ou só alterar a parede celular das plantas liberando acesso mais fácil aos compostos alvo

(ALAVARSA-CASCALES et al., 2022; CORTES-FERRE; ANTUNES-RICARDO; GUTIÉRREZ-URIBE, 2022; PATIL et al., 2021). Outra ação é a redução do tempo usado na extração e a possibilidade de controle de temperatura durante o processo que traz vantagens quando o foco são bioativos termolábeis (NADAR; RAO; RATHOD, 2018).

A escolha da técnica menos agressiva para extrair e recuperar os compostos bioativos são um passo importante para garantir que os compostos não sejam degradados, estejam estáveis e seguros para aplicação nas indústrias farmacêutica, médica e alimentícia (RAFIŃSKA et al., 2022).

Desse modo, o presente artigo tem como objetivo reunir dados publicados na literatura dentre os anos de 2018 e 2023 sobre o uso da extração assistida por enzimas de compostos bioativos de frutos. Trazendo um compilado de funcionamento do método, vantagens da sua utilização, principais bioativos extraídos e aplicações industriais.

EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR ENZIMAS, COMO FUNCIONA?

A extração assistida por enzimas é uma técnica não convencional, que vêm sendo utilizada por ser mais seletiva e ambientalmente correta, onde enzimas hidrolíticas rompem a rede de polissacarídeos, como lignina, celulose, hemicelulose e pectina, das paredes celulares, sendo capazes de liberar compostos bioativos (PATIL et al., 2021; SONG et al., 2020).

Para ocorrer essa ruptura, acontece uma ligação entre a parede celular e o sítio ativo da enzima com maior especificidade, causando interação máxima entre os dois, pois a enzima muda sua forma e assim o substrato encaixa no sítio ativo (NADAR; RAO; RATHOD, 2018). Durante a liberação das moléculas bioativas livres, essa mudança que houve na forma da enzima, quebra as ligações da parede celular, sendo assim a extração assistida por enzimas dos compostos bioativos (NADAR; RAO; RATHOD, 2018).

A eficiência dessa extração vai depender de fatores como o material de origem, enzima utilizada e resultados esperados (SONG et al., 2020). É necessário conhecer a composição química e morfológica da biomassa em questão, para assim identificar os compostos de interesse e determinar um protocolo adequado para a realidade do processo

(COSTA et al., 2020; SONG et al., 2020). Já o rendimento vai depender de parâmetros como solvente, temperatura, pH, disponibilidade do substrato, tempo da reação e carga enzimática (COSTA et al., 2020).

Geralmente, a temperatura utilizada varia de 40 a 60° C, pois se essa for muito elevada pode causar a desnaturação da enzima e inviabilizar o processo, assim como também é utilizado baixas concentrações de enzimas, visto que em altas concentrações pode ocorrer a degradação da parede celular por maior tempo, assim como o período da reação para incubação longo também poderá degradar o extrato e aumentar custos (COSTA et al., 2020). As enzimas capazes de extrair polissacarídeos de fontes vegetais mais utilizadas são α -amilase, celulase, pectinase e protease (SONG et al., 2020).

Na EAE são utilizados materiais naturais como frutos e também os resíduos gerados por esses, sendo farelos, sementes e cascas, contribuindo ainda mais com a sustentabilidade e economia em indústrias, pois o fruto completo poderá ser revestido em matéria-prima (ŁUBEK-NGUYEN; ZIEMICHÓD; OLECH, 2022). Esse método vem se desenvolvendo de forma eficiente sem a necessidade do uso de equipamentos especializados, podendo utilizar soluções aquosas e condições de processamento leves, aplicando em extração de compostos com baixo peso molecular e macromoléculas, como por exemplo, polifenóis, ácidos graxos, óleos, açúcares e proteínas (BELWAL et al., 2018; ŁUBEK-NGUYEN; ZIEMICHÓD; OLECH, 2022).

Vantagens e desvantagens de aplicação dessa técnica

A EAE possui várias vantagens quando comparadas aos métodos convencionais, como o menor tempo de extração e redução de custos durante a produção, a utilização de processos em condições suaves incluindo a baixa temperatura e maior rendimento com solvente reduzido, podendo utilizar solventes orgânicos ou até mesmo a água (DAS; NADAR; RATHOD, 2021; GLIGOR et al., 2019; NADAR; RAO; RATHOD, 2018). Esse método também proporciona a extração de grande quantidade de compostos bioativos sem alterar a estrutura bioquímica, já que apresenta especificidade maior, com alta biodisponibilidade, além de gerar menos resíduos, resultando em produtos com maior qualidade (COSTA et al., 2020; GLIGOR et al., 2019).

Essa extração utiliza o fruto e também os subprodutos, não sendo tóxico para o consumo humano, sendo uma técnica ecologicamente viável, incluindo menos equipamentos durante o processo, gerando menos poluentes e resíduos secundários, com

menor consumo de energia, o que resulta também em menos emissões de gases do efeito estufa (COSTA et al., 2020).

Nessa técnica, como desvantagem, as enzimas só conseguem romper totalmente a parede celular quando utilizadas em condições de processos melhoradas, para melhor atender a liberação dos compostos bioativos livres, não sendo capaz de extrair todos esses compostos devido à solubilidade ser menor em meios aquosos de extração (PATIL et al., 2021). O processo também pode sofrer contaminação e deterioração dos produtos já extraídos, quando se submete a separação de uma enzima aquosa do sistema de extração, tornando assim o procedimento de purificação mais complexo (PATIL et al., 2021).

Para a aplicação em larga escala, como esperado pela indústria, a EAE pode apresentar outras desvantagens como a atividade catalítica menor depois de vários ciclos, inviabilizando a reciclagem e reutilização (DAS; NADAR; RATHOD, 2021). Sendo assim, a utilização dessa técnica seria viável somente em produtos de alto valor, visto que as enzimas vão apresentar alto custo, pois seria necessário combinar várias enzimas para a extração e processos adicionais para purificação e separação dos produtos (DAS; NADAR; RATHOD, 2021).

Uma solução seria a imobilização de enzimas, pois com esse processo, aumentaria a seletividade e especificidade, sendo possível também suportar diferentes temperaturas e pHs, com recuperação e reutilização dessas enzimas, não degradando facilmente, possibilitando a aplicação em indústrias, alcançando resultados em menor tempo e reduzindo custo adicionais ao processo (ASHKAN et al., 2021; COSTA et al., 2020; DAS; NADAR; RATHOD, 2021).

EXTRAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS

Classificados como metabólitos secundários, os compostos bioativos não tem como função participar do metabolismo das plantas na fotossíntese. Porém, seu valor está em proteger a planta contra a radiação ultravioleta, proteção contra insetos e outros herbívoros, serem um atrativo a polinização, participarem da estrutura da planta e outras funções (SANTOS; SANTANA, 2022). Apesar de serem encontrados nas plantas em geral em boas quantidades, os bioativos podem ser afetados por fatores que diminuem sua funcionalidade e biodisponibilidade, como luz, oxigênio, pH, temperatura, o trato

gastrointestinal. Esses fatores podem impedir que os compostos estejam estáveis para ser absorvido pelo intestino e chegue até o sistema circulatório e por fim nas células onde de fato atuam (KOOOP et al., 2022).

Dessa maneira, a tecnologia de extração é uma aliada como uma facilitadora ao acesso dos compostos alvo, tornando mais acessível a determinação e recuperação destes compostos (Tabela 1). Para cada composto e a sua localização na porção do fruto usado como amostra é necessária uma enzima ou combinação de enzimas específicas para conseguir romper a parede celular e tornar o composto atingível (DAS; NADAR; RATHOD, 2021).

Carotenóides

Os carotenoides pertencem a uma classe de compostos como longas cadeias de hidrocarbonetos poli-insaturados, trazendo a eles a característica de serem apolares. Quando feita extrações com solventes orgânicos os mais usuais são o éter de petróleo e o hexano devido a sua característica também apolar. Por serem também lipofílicos esses compostos também possuem propensão de formar isômeros e oxidar com maior facilidade, tornando assim o processo de extração uma etapa que precisa ser simples e rápida, pois eles podem se degradar na presença luz, calor, gorduras insaturadas, peróxidos e metais (MIĘKUS et al., 2019).

O licopeno é um carotenóide que possui coloração vermelha, isso devido a suas treze ligações carbono com carbono e onze ligações conjugadas. Ele se faz presente em frutas como tomate (CATALKAYA; KAHVECI, 2019; LOMBARDELLI et al., 2020). O resíduo de tomate é um subproduto muito disponível na indústria de pasta de tomate, assim Catalkaya & Kahveci, (2019) propuseram otimizar a extração assistida pelas enzimas celulase e pectinase combinada a solventes como forma de extrair o licopeno dos resíduos de tomate. Eles identificaram que as condições ótimas foram a temperatura de reação enzimática de 40 °C, tempo de reação enzimática de 5 h, razão enzima: substrato de 0,2 ml/g, razão solvente: substrato de 5 ml/g, tempo de extração de 1 h e razão enzima: enzima de 1. Onde nesse ponto de melhor extração obtiveram o rendimento de 11,5 mg de licopeno/g.

Lombardelli et al., (2020) e seus colaboradores usaram a metodologia de superfície de resposta para determinar as regiões ótimas para extração de cromoplastos contendo carotenoides assistido pelas enzimas poligalacturonase, pectinase, celulase e

xilanase. A região ótima para a extração ficou entre as temperaturas de 45 a 55 °C, pH de 5 a 5,5, dosagem enzimática de 25 U/g e 180 min de extração. Recuperando assim, 4,30 mg de cromoplastos contendo carotenóides por Kg de tomate.

Polifenóis

As antocianinas são metabólitos secundários que conferem aos frutos as cores roxa, azul, preta e vermelha. Possuem benefícios para o organismo como poder anti-inflamatório, antiviral e antioxidantes (GONZÁLEZ et al., 2022; NGOC NHON et al., 2022). Estudos tem sido proposto para avaliar o efeito da extração assistida por enzimas em antocianinas de frutos, Alavarsa-Cascales et al., (2022) otimizaram em seu trabalho a extração de antocianinas do açaí com a enzima pectinase. Determinaram que as condições de 0,1 g de amostra aquecido a 60 °C e extraído com 15 mL de solvente com pH 4 e etanol 40%, 500 unidades de enzima por grama de amostra e agitação a 150 rpm pelo tempo de 15 min foram ótimas com um rendimento de Rendimento de 5,882 mg de antocianinas totais/g de açaí.

Estudando outro fruto também de coloração quase preta, González et al., (2022) compararam a extração a extração de antocianinas da groselha negra pelos métodos de extração assistida por ultrassom e extração assistida por enzimas com a pectinase. Os pesquisadores observaram que a composição do solvente foi a variável mais influente nos dois métodos e que não houve diferença observada na quantificação de antocianinas, mas as melhores condições para a extração enzimática foram Etanol 10% em água, pH 4,1; temperatura de extração de 30 °C, 50% de amplitude e 91,0 unidades de enzima por grama de amostra.

Syrpas et al., (2021) usaram o bagaço de mirtilo e realizaram a extração assistida por enzimas com uma enzima comercial Viscozyme ® L, que é uma combinação de beta-glucanases, pectinases, hemicelulases e xilanases. Através da metodologia de superfície de resposta propuseram as condições ótimas de extração em pH: 4,5, temperatura 46 °C, 1 h de extração e 2 unidades ativas (UA) de Viscozyme L/g de bagaço de mirtilo. Os resultados do estudo foram comparados a extração sólido-líquido convencional o rendimento foi de 56,15 g/100 g DW da fração solúvel em água e houve aumento significativo do efeito antioxidante in vitro e antocianinas.

A capsaicina é muito comum nas pimentas, principalmente nas células do epicarpo e também nas sementes, é o composto responsável pela pungência dos frutos. É bastante

descrita na literatura como termo ativa e em estudos com câncer (VÁZQUEZ-ESPINOSA et al., 2023). Cortes-Ferre et al., (2022) investigaram em seu trabalho as condições ótimas de extração dos capsaicinoides da pimenta assistida pela enzima celulase, onde foram quantificados 310,23 µg/ml de capsaicina nas condições de temperatura de 45 °C concentração de enzima de 250 UI/L no tempo de 120 min.

Os fenólicos são uma classe que está presente nas plantas principalmente na parede celular ligados a outras moléculas, possuem destaque principalmente por comprovada atividade antioxidante e prevenção de doenças cardiovasculares (COSTA et al., 2020). As cascas do abacate, subproduto muitas vezes descartado foi estuda por Hefzalrahman et al., (2022), nesse estudo foi avaliado de forma comparativa a extração dos fenólicos da amostra pelo método de extração assistida por ultrassom e por extração assistida por enzimas. As enzimas foram uma mistura comercial que contém arabinase, celulase, α -glucanase, hemicelulase e xilanase. Os resultados mostraram que os ensaios feitos com adição de 1% de enzima usando um sólido-razão de tampão de 1:20 (p/v) após incubação por 60 min foram superiores aos feitos com ultrassom.

Para a maçã do bálsamo Qadir et al., (2019) apresentaram um estudo usando a metodologia de superfície de resposta para a extração assistida por enzimas comerciais, as condições ótimas encontradas foram tempo de 60 min, temperatura de 50 °C, pH 7,5 e concentração de enzima de 6,5%. Dos complexos enzimáticos empregados neste estudo, zympex-014 ofereceu rendimento máximo de extração de 42,6 g/100 g. As mesmas enzimas foram estudadas para extração assistida da alcaparra, Qadir et al., (2022) identificaram que a combo enzimático Kemzyme Plus Dry apresentou o maior rendimento, as condições 6,5% de concentração de enzima, pH 7,5, temperatura de 50 °C e tempo de reação de 60 min.

Para analisar os fenólicos e os flavonoides do fruto goji, Shang et al., (2022) usaram diferentes métodos de extração. Os resultados demonstraram que a extração enzimática com pectinase, celulase e papaína foi mais eficaz que o ultrassom na extração de compostos fenólicos e flavonoides. Sendo as condições ótimas 3 g de amostra, etanol 70%, pH da solução foi alinhado 5,5, 3% (p/p) de pectinase, 3% (p/p) de celulase e 1,5% (p/p) de papaína e a solução foi deixada a temperatura de 50°C pelo tempo de 60 min.

Os resíduos da indústria também são boas fontes de compostos fenólicos, os resíduos de morango e acerola foram analisados por Silva et al., (2022) com extração por

solvente comparando com a extração assistida por enzimas. No estudo as melhores condições de extração enzimática foram 2,31 g da amostra diluída em 20 mL do tampão fosfato de potássio (100 µM em pH 6), concentração de enzima protease/peptidase de 100 µL por 2 h a 100 rpm e temperatura de 50 °C. Assim, a casca da acerola obteve o maior rendimento de fenólicos equivalente a 45,46 mg GA/g.

Tabela 1. Metodologia de extração assistida por enzimas na extração de compostos bioativos de frutas.

Composto bioativo	Fonte	Enzima	Condições	Resultado	Referência
Antocianinas	Bagaço de mirtilo (<i>Vaccinium myrtillus</i> L.)	Enzima comercial Viscozyme ® L, que contém beta-glucanases, pectinases, hemicelulases e xilanases	pH: 4,5, temperatura 46 °C, 1 h de extração e 2 unidades ativas (UA) de Viscozyme L/g de bagaço de mirtilo	Rendimento de 56,15 g/100 g DW da fração solúvel em água. Aumento significativo do efeito antioxidante in vitro e antocianinas.	(SYRPAS et al., 2021)
	Groselha negra (<i>Ribes nigrum</i> L.)	Pectinase	Etanol 10% em água, pH 4,1; temperatura de extração de 30 °C, 50% de amplitude e 91,0 unidades de enzima por grama de amostra.	Antocianinas mais abundantes na groselha negra foram cyanidin 3-O-glucoside e cyanidin 3-O-rutinoside, representando 90% do total de antocianinas	(GONZÁLEZ et al., 2022)
	Açaí (Euterpe)	Pectinase	0,1 g de amostra aquecido a 60 °C e extraído com 15	Rendimento de 5,882 mg de	(ALAVARSA -CASCALES et al., 2022)

Estudos em Ciências Agrárias no Brasil: Produções Multidisciplinares no Século XXI

	Oleracea Mart.)		mL de solvente com pH 4 e etanol 40%, 500 unidades de enzima por grama de amostra e agitação a 150 rpm pelo tempo de 15 min.	antocianinas totais/g de açaí	
Capsaicina	Sementes de pimenta habanero (<i>Capsicum chinense</i>)	Celulase	Temperatura de 45 °C concentração de enzima de 250 UI/L no tempo de 120 min.	Rendimento de 310,23 µg/ml de capsaicina	(CORTES-FERRE; ANTUNES-RICARDO; GUTIÉRREZ-URIBE, 2022)
Carotenoide s totais	Resíduos de tomate	Poligalacturonase, pectinaliase, celulase e xilanase.	Temperaturas de 45 a 55 °C, pH de 5 a 5,5, dosagem enzimática de 25 U/g e 180 min de extração.	Rendimento de 4,30 mg cromoplastos contendo carotenóides/Kg de tomate.	(LOMBARDELLI et al., 2020)
Fenólicos	Casca de abacate (<i>Persea americana mill.</i>)	Enzima comercial Viscozyme L., mistura de enzimas arabinase, celulase, α-glucanase, hemicelulase e xilanase	Adição de 1% de enzima usando um sólido-razão de tampão de 1:20 (p/v) após incubação por 60 min.	Rendimento 35,1± 0,45 mg GAE/g de casca seca	(HEFZALRA HMAN et al., 2022)

Estudos em Ciências Agrárias no Brasil: Produções Multidisciplinares no Século XXI

	Maçã bálsamo (<i>Momordica balsamina</i>)	Enzimas comerciais Kemzyme dry plus, Natuzyme e Zympex-014	Tempo de 60 min, temperatura de 50 °C, pH 7,5 e concentração de enzima de 6,5%	Dos complexos enzimáticos empregados neste estudo, zympex-014 ofereceu rendimento máximo de extração de 42,6 g/100 g	(QADIR et al., 2019)
	Alcapara (<i>Capparis spinosa</i>)	Enzimas comerciais Kemzyme dry plus, Natuzyme e Zympex-014	6,5% de concentração de enzima, pH 7,5, temperatura de 50 ° C e tempo de reação de 60 min	Kemzyme Plus Dry foi confirmado por experimentos de validação que exibiram uma resposta do rendimento do extrato como 41,74 ± 1,46%,	(QADIR et al., 2022)
	Goji (<i>Lycium barbarum</i>)	Pectinase, celulase e papaína	3 g de amostra, etanol 70%, pH da solução foi alinhado 5,5, 3% (p/p) de pectinase, 3% (p/p) de celulase e 1,5% (p/p) de papaína e a solução foi deixada a temperatura de 50°C pelo tempo de 60 min.	Rendimento de extração de compostos fenólicos de 11,857 ± 0,393 mg GAE/g e flavonoides de 1,637 ± 0,041 mg CE/g	(SHANG et al., 2022)

	Resíduos de acerola (Malpighia emarginata) e morango (Fragaria × ananassa)	Protease/peptidase e α -amilase	2,31 g da amostra diluída em 20 mL do tampão fosfato de potássio (100 μ M em pH 6), concentração de enzima protease/peptidase de 100 μ L por 2 h a 100 rpm e temperatura de 50 °C.	O maior rendimento de fenólicos foi para a casca de acerola extraída com a enzima protease/peptidase, equivalente a 45,46 mg GA/g	
Licopeno	Resíduo de tomate	Celulase e pectinase	Temperatura de reação enzimática de 40 °C, tempo de reação enzimática de 5 h, razão enzima: substrato de 0,2 ml/g, razão solvente: substrato de 5 ml/g, tempo de extração de 1 h e razão enzima: enzima de 1.	Rendimento de 11,5 mg de licopeno/g.	(CATALKAY A; KAHVECI, 2019)

Aplicação na indústria

A EAE pode ser empregada no processamento de suco de frutas, permitindo maior rendimento do produto, menor viscosidade, maior clareza e mais praticidade na degradação da parede celular, sendo parâmetros esperados pela indústria, principalmente

com fruta (GLIGOR et al., 2019). Essa técnica também pode ser utilizada para produção de pigmentos naturais, o que pode substituir os corantes artificiais utilizados em alimentos, viabilizando a aplicação do método, visto que não apresenta toxicidade (MIRANDA et al., 2021).

A utilização da EAE combinada com outras técnicas pode gerar novos produtos industriais, como por exemplo, o uso do fluido supercrítico, extraíndo óleos essenciais, esses são amplamente utilizados como ingredientes aromáticos, na aromaterapia moderna, assim como também em cosméticos e produtos farmacêuticos, além da capacidade de contribuir para a conservação em alimentos (PATIL et al., 2021).

CONCLUSÃO

Desse modo, para usar a extração assistida por enzimas para extrair compostos bioativos é necessário um conhecimento prévio da composição da parede celular da matéria-prima, para assim escolher a melhor enzima ou a combinação de enzimas necessárias para romper a parede e tornar mais fácil o acesso aos compostos de interesse. Para sanar as desvantagens que o método apresenta, como o custo das enzimas, a dificuldade de reprodução do método em escala industrial e a diminuição da atividade catalítica. A combinação de pré-tratamentos antes da EAE pode ser uma solução viável, assim como a imobilização das enzimas que traria mais seletividade e especificidade para o processo. Portanto, como foi descrito nessa revisão o uso da EAE é uma solução menos agressiva a matéria-prima, fazendo com que o uso menor ou até inexistente de solventes traga uma maior segurança ao produto final.

REFERÊNCIAS

ALAVARSA-CASCALES, D. et al. Optimization of an Enzyme-Assisted Extraction Method for the Anthocyanins Present in Açai (*Euterpe oleracea* Mart.). *Agronomy*, v. 12, n. 10, p. 2327, 2022.

ARAUJO, N. P. et al. Functional and nutritional properties of selected Amazon fruits: A review. *Food Research International*, v. 147, n. May, 2021.

ASHKAN, Z. et al. Immobilization of enzymes on nanoinorganic support materials: An update. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 168, p. 708–721, 2021.

BELWAL, T. et al. A critical analysis of extraction techniques used for botanicals: Trends, priorities, industrial uses and optimization strategies *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 2018.

CÁDIZ-GURREA, M. DE LA L. et al. Revalorization of bioactive compounds from tropical fruit by-products and industrial applications by means of sustainable approaches. *Food Research International*, v. 138, n. October, 2020.

CATALKAYA, G.; KAHVECI, D. Optimization of enzyme assisted extraction of lycopene from industrial tomato waste. *Separation and Purification Technology*, v. 219, n. March, p. 55–63, 2019.

CORTES-FERRE, H. E.; ANTUNES-RICARDO, M.; GUTIÉRREZ-URIBE, J. A. Enzyme-assisted extraction of anti-inflammatory compounds from habanero chili pepper (*Capsicum chinense*) seeds. *Frontiers in Nutrition*, v. 9, n. September, p. 1–9, 2022.

COSTA, J. R. et al. Valorization of Agricultural Lignocellulosic Plant Byproducts through Enzymatic and Enzyme-Assisted Extraction of High-Value-Added Compounds: A Review. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, v. 8, n. 35, p. 13112–13125, 2020.

DAS, S.; NADAR, S. S.; RATHOD, V. K. Integrated strategies for enzyme assisted extraction of bioactive molecules: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 191, n. September, p. 899–917, 2021.

GLIGOR, O. et al. Enzyme-assisted extractions of polyphenols – A comprehensive review. *Trends in Food Science and Technology*, v. 88, n. September 2018, p. 302–315, 2019.

GONZÁLEZ, M. J. A. et al. A comparison study between ultrasound–assisted and enzyme–assisted extraction of anthocyanins from blackcurrant (*Ribes nigrum* L.). *Food Chemistry: X*, v. 13, n. October 2021, 2022.

HEFZALRAHMAN, T. et al. Application of Enzyme and Ultrasound Assisted Extraction of Polyphenols From Avocado (*Persea Americana* Mill.) Peel As Natural Antioxidants. *Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria*, v. 21, n. 2, p. 129–138, 2022.

KOOP, B. L. et al. Flavonoids, anthocyanins, betalains, curcumin, and carotenoids: Sources, classification and enhanced stabilization by encapsulation and adsorption. *Food*

Research International, v. 153, n. January, 2022.

LOMBARDELLI, C. et al. Tailored and synergistic enzyme-assisted extraction of carotenoid-containing chromoplasts from tomatoes. *Food and Bioproducts Processing*, v. 121, p. 43–53, 2020.

ŁUBEK-NGUYEN, A.; ZIEMICHÓD, W.; OLECH, M. Application of Enzyme-Assisted Extraction for the Recovery of Natural Bioactive Compounds for Nutraceutical and Pharmaceutical Applications *Applied Sciences* (Switzerland), 2022.

MIĘKUS, N. et al. Green chemistry extractions of carotenoids from *daucus carota* L.-Supercritical carbon dioxide and enzyme-assisted methods. *Molecules*, v. 24, n. 23, p. 1–20, 2019.

MIRANDA, P. H. S. et al. A scientific approach to extraction methods and stability of pigments from Amazonian fruits. *Trends in Food Science and Technology*, v. 113, n. August 2020, p. 335–345, 2021.

NADAR, S. S.; RAO, P.; RATHOD, V. K. Enzyme assisted extraction of biomolecules as an approach to novel extraction technology: A review. *Food Research International*, v. 108, n. March, p. 309–330, 2018.

NGOC NHON, H. T. et al. Enhancement of extraction effectiveness and stability of anthocyanin from *Hibiscus sabdariffa* L. *Journal of Agriculture and Food Research*, v. 10, n. July, p. 100408, 2022.

OKOLIE, C. L. et al. Influence of conventional and recent extraction technologies on physicochemical properties of bioactive macromolecules from natural sources: A review. *Food Research International*, v. 116, n. September 2018, p. 827–839, 2019.

PATIL, P. D. et al. Enzyme-assisted supercritical fluid extraction: An integral approach to extract bioactive compounds. *Trends in Food Science and Technology*, v. 116, n. August 2020, p. 357–369, 2021.

QADIR, R. et al. Enzyme-assisted extraction of *Momordica balsamina* L. fruit phenolics: process optimized by response surface methodology. *Journal of Food Measurement and Characterization*, v. 13, n. 1, p. 697–706, 2019.

QADIR, R. et al. Enzyme-Assisted Extraction of Phenolics from *Capparis spinosa* Fruit: Modeling and Optimization of the Process by RSM and ANN. *ACS Omega*, v. 7, n. 37,

p. 33031–33038, 2022.

RAFIŃSKA, K. et al. Enzyme-assisted extraction of plant material – New functional aspects of the process on an example of *Medicago sativa* L. *Industrial Crops and Products*, v. 187, p. 115424, nov. 2022.

SANTOS, T. R. J.; SANTANA, L. C. L. DE A. Conventional and emerging techniques for extraction of bioactive compounds from fruit waste. *Brazilian Journal of Food Technology*, v. 25, p. 1–18, 2022.

SHANG, Y. F. et al. HPLC-MS/MS targeting analysis of phenolics metabolism and antioxidant activity of extractions from *Lycium barbarum* and its meal using different methods. *Food Science and Technology (Brazil)*, v. 42, p. 1–8, 2022.

SILVA, T. O. M. et al. Bioactive compounds and antioxidants activities in the agro-industrial residues of berries by solvent and enzyme assisted extraction. *Food Science and Technology (Brazil)*, v. 42, p. 1–11, 2022.

SONG, Y. R. et al. 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.

SYRPAS, M. et al. Valorization of bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) pomace by enzyme-assisted extraction: Process optimization and comparison with conventional solid-liquid extraction. *Antioxidants*, v. 10, n. 5, 2021.

VÁZQUEZ-ESPINOSA, M. et al. The effect of ripening on the capsaicinoids composition of Jeromin pepper (*Capsicum annuum* L.) at two different stages of plant maturity. *Food Chemistry*, v. 399, p. 133979, 15 jan. 2023.