



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DOS ALIMENTOS

EXTRAÇÃO AQUOSA ENZIMÁTICA DE ÓLEO DE NOZES E CASTANHAS:
uma prospecção tecnológica

KAROLINE LETICIA LOVIS

Florianópolis - SC

2022

KAROLINE LETICIA LOVIS

EXTRAÇÃO AQUOSA ENZIMÁTICA DE ÓLEO DE NOZES E CASTANHAS:
uma prospecção tecnológica

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências dos Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do título de Mestre em Ciências dos Alimentos.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria Manuela Camino Feltes.

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Jaciane Lutz Ienczak.

Florianópolis – SC

2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Lovis, Karoline Leticia
Extração aquosa enzimática de óleo de nozes e castanhas:
uma prospecção tecnológica / Karoline Leticia Lovis ;
orientadora, Maria Manuela Camino Feltes, coorientador,
Jaciane Lutz Ienczak, 2022.
70 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós
Graduação em Ciência dos Alimentos, Florianópolis, 2022.

Inclui referências.

1. Ciência dos Alimentos. I. Feltes, Maria Manuela
Camino. II. Ienczak, Jaciane Lutz . III. Universidade
Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em
Ciência dos Alimentos. IV. Título.

Karoline Leticia Lovis

EXTRAÇÃO AQUOSA ENZIMÁTICA DE ÓLEO DE NOZES E CASTANHAS:
uma prospecção tecnológica

O presente trabalho em nível de Mestrado foi avaliado e aprovado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof.(a) Dr.(a) PATRICIA MELCHIONNA ALBUQUERQUE
Universidade do Estado do Amazonas

Prof.(a) Dr.(a) ITACIARA LARROZA NUNES
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Dr. GIUSTINO TRIBUZI
Universidade Federal de Santa Catarina

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de Mestre em Ciências dos Alimentos

Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências dos Alimentos

Prof.(a) Dr.(a) Maria Manuela Camino Feltes
Orientadora

Prof.(a) Dr.(a) Jaciane Lutz Ienczak
CoOrientadora

Florianópolis, 2022.

AGRADECIMENTOS

A Deus,

À toda minha família, por todo amor, apoio e incentivo.

À Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) e ao Programa de Pós-graduação em Ciências dos Alimentos (PPGCAL), pela oportunidade de realização do mestrado.

À minha orientadora, Prof^a. Dr^a. Maria Manuela Camino Feltes, por todos os momentos compartilhados, os conhecimentos transmitidos e a confiança depositada para realização deste trabalho, e por ter insistido e nunca desistido de mim.

À minha coorientadora, Prof^a. Dr^a Jaciane Lutz Ienczak, por todas as contribuições ao longo do mestrado.

Aos professores do PPGCAL/UFSC pelo conhecimento transmitido.

Aos amigos do PPGCAL, em especial à Bruna que sempre estendeu a mão quando precisei.

A toda equipe de pesquisa da Prof^a. Maria Manuela, especialmente ao Gustavo Fortunatto que nunca deixou de me ajudar quando mais precisei.

Aos demais amigos, colegas que sempre estiveram por perto, auxiliando, torcendo por este momento.

Aos membros da banca por aceitarem o convite e por suas contribuições.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida nestes meses.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e SESCOOP, pelo apoio financeiro concedido durante a realização deste trabalho e pesquisa do grupo (Processo CNPq nº 403195/2018-7).

RESUMO

As nozes, castanhas e amendoim são matérias-primas nutritivas, contendo alto teor de lipídios, além de proteínas e carboidratos. Apresentam um perfil de ácidos graxos de interesse nutricional, principalmente insaturados, dentre eles alguns que são essenciais à dieta humana. São, portanto, matérias-primas que se destacam pela combinação de nutrientes que apresentam. A extração convencional de óleo destas matrizes é feita normalmente pelo processo mecânico, que fornece óleo e torta de prensagem como coproduto. É importante o desenvolvimento de estudos sobre processos alternativos e verdes que tragam vantagens frente à tecnologia aplicada atualmente. A extração aquosa enzimática de óleo de nozes, castanhas e amendoim é um processo disruptivo e limpo que permite aumentar o rendimento de obtenção de óleo e liberar paralelamente hidrolisados com características e propriedades de interesse em diferentes áreas, dentre elas, a indústria alimentícia. Assim, o objetivo deste estudo foi investigar as potencialidades tecnológicas da extração aquosa assistida por enzimas visando a obtenção de óleo com alta qualidade e rendimento a partir de nozes, castanhas e amendoim. Os dados foram recuperados das bases de patentes Espacenet® e Instituto Nacional de Propriedade Intelectual (INPI), por meio de uma busca avançada, utilizando uma terminologia adequada, nos campos “título” e “resumo”, sem limitação de data. Após a leitura dos títulos, dos resumos e (quando aplicável) das reivindicações das patentes, foram selecionados 9 (nove) documentos, que abordavam a extração de óleo por enzimas, o uso de processos assistidos e, em alguns casos, também a obtenção de produtos paralelos. Os dados coletados indicaram que as patentes de interesse para o tema em estudo foram publicadas a partir do ano de 2008 principalmente pela China. Apenas 1 patente já foi concedida. As invenções relacionavam-se à extração de óleo funcional majoritariamente utilizando-se as matérias-primas nozes, seguido de pinhão, noz de macadâmia, noz de pili e amendoim. Além do óleo, três patentes focaram na extração simultânea de proteínas hidrolisadas e uma focou na extração paralela de proteínas não hidrolisadas. Em algumas invenções, o uso de ultrassom ou micro-ondas como tecnologia assistida permitiu diminuir o tempo de processamento durante a extração aquosa enzimática. O levantamento revelou que este método enzimático é promissor, com potencialidades de aplicação para a biotransformação destas matrizes

oleaginosas. Os resultados deste estudo contribuem com o levantamento de dados, bem como a geração de conhecimento, dentro da cadeia de produção de nozes, castanhas e amendoim, como uma forma de propor inovações tecnológicas para este setor.

Palavras-chave: Tecnologia verde, Enzima, Hidrólise, Óleo funcional, Patentes.

ABSTRACT

Nuts and peanuts are nutritious raw materials, containing a high content of lipids, in addition to proteins and carbohydrates. They present a fatty acid profile of nutritional interest, mainly unsaturated, among them some are essential to the human diet. They are, therefore, raw materials that stand out for the combination of nutrients they present. The conventional oil extraction from these matrices is usually done by a mechanical process, which provides oil and press cake as a co-product. It is important to develop studies on alternative and green processes that bring advantages compared to the technology currently applied. The enzymatic aqueous extraction of oil from nuts and peanuts is a disruptive and clean process that allows increasing the oil yield and releasing side hydrolysates with characteristics and properties of interest for use in different areas, including the food industry. Thus, the objective of this study was to investigate the technological potentialities of the enzyme-assisted aqueous extraction, in order to obtain high-quality and yield oil from nuts and peanuts. The data were retrieved from the Espacenet® and *Instituto Nacional de Propriedade Intelectual* (INPI) patent databases, through an advanced search using a suitable terminology, in the “title” and “abstract” fields. The search was not time-limited. After reading the titles, abstracts and (when applicable) patent claims, 9 (nine) documents were selected, which addressed the extraction of oil by enzymes, the use of assistive processes and, in some cases, also obtaining side products. The data collected indicated that these patents of interest to the topic under investigation have been published since the year 2008, mainly by China. Only 1 patent has been granted. The inventions were related to the extraction of functional oil, mostly using the raw materials nuts, followed by pine nuts, macadamia nut, pili nut and peanut. In addition to the oil, three patents focused on the simultaneous extraction of protein hydrolysates and one focused on the extraction of nonhydrolyzed proteins. In some inventions, the use of ultrasound or microwaves as an assistive technology allowed to decrease processing time during enzymatic aqueous extraction. The survey revealed that this enzymatic method is promising, with application potentialities for the biotransformation of these oleaginous matrices. The results of this study contribute to the collection of data, as well as the generation of knowledge, within the production chain of nuts and peanuts, as a way of proposing technological innovations for this sector.

Keywords: Green technology, Enzyme, Hydrolysis, Functional oil, Patents.

Lista de figuras

Figura 1 - Protocolo da pesquisa no Espacenet®, incluindo a terminologia, os critérios de inclusão e exclusão para a estratégia e obtenção de resultados do mapeamento das patentes	37
Figura 2 – Protocolo da pesquisa no INPI, incluindo a terminologia, os critérios de inclusão e exclusão para a estratégia e obtenção de resultados do mapeamento das patentes.....	38
Figura 3 – Número de patentes por ano de publicação referente aos documentos selecionados no Espacenet® sobre extração aquosa assistida por enzimas de óleo de nozes, castanhas e amendoim.....	41
Figura 4 – Distribuição de depósitos de patentes selecionadas no Espacenet® sobre extração aquosa assistida por enzimas de óleo de nozes, castanhas e amendoim, por país.....	42
Figura 5 – Inventores das patentes selecionadas no Espacenet® sobre extração aquosa assistida por enzimas de óleo de nozes, castanhas e amendoim.....	43
Figura 6 – Frequência de códigos utilizados nas patentes selecionadas no Espacenet® sobre extração aquosa assistida por enzimas de óleo de nozes, castanhas e amendoim.....	44
Figura 7 – Matérias-primas utilizadas nas patentes selecionadas no Espacenet® sobre extração aquosa assistida por enzimas de óleo de nozes, castanhas e amendoim.....	45
Figura 8 – Produtos obtidos nas patentes selecionadas no Espacenet® sobre extração aquosa assistida por enzimas de óleo de nozes, castanhas e amendoim.....	46

Lista de tabelas

Tabela 1 – Composição físico-química de diferentes nozes, castanhas e amendoim.	20
Tabela 2 - Composição em ácidos graxos (%) do óleo extraído de nozes, castanhas e amendoim.....	21
Tabela 3 – Concentração média de tocoferóis ($\mu\text{g/g}$ de óleo) e fitosteróis ($\mu\text{g/g}$ de óleo) e composição média em compostos fenólicos totais ($\text{mg}/100\text{ g}$) e flavonoides totais ($\text{mg}/100\text{ g}$) de óleos extraídos de castanhas e nozes.....	22
Tabela 4 – Artigos mais recentes na base de dados Scopus, relacionados à extração aquosa assistida por enzimas de óleo, a partir de sementes oleaginosas (nozes, castanhas e amendoim).....	30
Tabela 5 - Composição da torta de diferentes oleaginosas.....	34
Tabela 6 – Patentes sobre extração aquosa assistida por enzimas de óleo de nozes, castanhas e amendoim, recuperadas na base de dados da <i>European Patent Office (Espacenet®)</i> , por palavras-chave combinadas conforme os termos de interesse para o estudo.....	39
Tabela 7 – Patentes sobre extração aquosa assistida por enzimas de óleo de nozes, castanhas e amendoim, recuperadas na base de dados brasileira Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI), por palavras-chave combinadas conforme os termos de interesse para o estudo.....	40
Tabela 8 – Patentes sobre extração aquosa assistida por enzimas de óleo de nozes, castanhas e amendoim, selecionadas a partir de uma busca na base de dados <i>Espacenet®</i> e de acordo com a matéria-prima e os métodos de extração aplicados...	47

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	18
2.1 OBJETIVO GERAL	18
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
3.1 COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE NOZES, CASTANHAS E AMENDOIM	19
3.2 OBTENÇÃO CONVENCIONAL E ALTERNATIVA DE ÓLEO A PARTIR DE NOZES, CASTANHAS E AMENDOIM	22
3.3 EXTRAÇÃO AQUOSA ASSISTIDA POR ENZIMAS PARA A OBTENÇÃO DE ÓLEO	26
3.3.1 Vantagens e desvantagens da extração aquosa assistida por enzimas	31
3.4 OBTENÇÃO E COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA TORTA DE Prensagem DE NOZES, CASTANHA E AMENDOIM	33
4 METODOLOGIA	36
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
CONCLUSÃO	56
REFERÊNCIAS	57
APÊNCICE	71

1 INTRODUÇÃO

As castanhas, as nozes e o amendoim são matérias-primas que apresentam destaque mundial. Com o término da colheita do hemisfério norte, a produção mundial de nozes está prevista para cerca de 5 milhões de toneladas na safra 2021/2022 (NUTFRUIT.ORG, 2021). Destes, os mais pesquisados são a castanha-do-brasil, a castanha de caju, o pistache, a noz pecã, a amêndoa e a macadâmia, pela combinação de nutrientes que apresentam (DEMOLINER *et al.*, 2018). A leguminosa amendoim também destaca-se, sendo amplamente utilizada para a extração de óleo, apresentando relevância nutricional (GAO *et al.*, 2021; DONG *et al.*, 2011).

Segundo Moreira *et al.* (2018), o consumo de nozes e outras sementes oleaginosas semelhantes promove benefícios à saúde, como controle de peso, prevenção do câncer e de doenças cardiovasculares, e redução das taxas de colesterol no sangue. O recomendado para consumo diário de nozes e castanhas é de 28 g/dia (NUTFRUIT.ORG, 2022). As nozes e castanhas, de maneira geral, são excelentes fontes de nutrientes e outras substâncias de interesse para a dieta (LIMA *et al.*, 2011). Seu consumo é estimulado por apresentarem diversas substâncias benéficas à saúde, incluindo compostos funcionais e biologicamente ativos (SOUSA *et al.*, 2011).

Estas oleaginosas contêm macronutrientes (lipídios, proteínas, fibras alimentares e carboidratos) e micronutrientes (vitaminas e minerais, como vitamina E, selênio, zinco) em quantidade e qualidade atrativas para a nutrição. São uma excelente fonte de ácidos graxos essenciais e contêm fosfolipídios, tocoferóis, fitosteróis e compostos fenólicos, e são naturalmente isentas de colesterol (ALASALVAR *et al.*, 2011). Alguns destes componentes têm atividade biológica comprovada, como a capacidade antioxidante. Apresentam quantidades razoáveis de tiamina, riboflavina e niacina, e representam ótima fonte de ferro e fósforo (CARVALHO, 2011). Uma revisão recente da literatura indicou a composição físico-química e química de diversas nozes e castanhas da biodiversidade brasileira (DANIELSKI *et al.*, 2020), comprovando o quanto essas oleaginosas são ricas em nutrientes e atrativas para extração de óleo e outros compostos de interesse para a área alimentícia e afins.

As nozes, castanhas e amendoim destacam-se por seus elevados teores de lipídios (60-80 g/100g) e proteínas (15-30 g/100g) (MERELES *et al.*, 2017; DOS SANTOS *et al.*, 2011; LIU *et al.*, 2020).

Na maioria das indústrias, as nozes e castanhas, quando não são exportadas ou consumidas *in natura*, são destinadas à extração lipídica. Na indústria, isto ocorre, em grande parte, por meio de processos de prensagem. Esta tecnologia gera resíduos com alto valor nutricional, destacando-se um alto teor de fibras e de proteínas, dentre outros componentes (SANTOS, 2008; YANG, 2009). Na extração mecânica, o resíduo gerado, denominado torta, geralmente é destinado à alimentação animal. Pode, ainda, ser incorporado a diversos alimentos, como, por exemplo, nas indústrias de panificação e confeitaria (SOUZA e MENEZES, 2004; SANTOS *et al.*, 2011).

O teor de torta proveniente da extração por prensagem pode chegar a aproximadamente 50% da matéria-prima processada. Este coproduto normalmente é submetido a processos de extração posteriores com solventes orgânicos, para a extração do óleo residual presente. Este material, no entanto, pode ser submetido a métodos de extração alternativos, que não utilizem solventes químicos, para um melhor aproveitamento. Um dos métodos alternativos para a extração de óleo envolve a aplicação de um sistema aquoso com a combinação de enzimas (SILVA *et al.*, 2021).

A extração aquosa assistida por enzimas vem sendo estudada com várias oleaginosas, por ser uma opção alternativa e sustentável em relação a outros métodos de extração de óleos, e que permite um rendimento superior ao obtido na prensagem mecânica. Segundo Rovaris (2011), este processo consome pouca energia, reduz e/ou elimina a aplicação de solventes orgânicos. Ocorre sob condições reacionais brandas, sendo um processo que preserva a composição original da matéria-prima (POLMANN *et al.*, 2019; SHARMA *et al.*, 2006; YUSOFF *et al.*, 2016). O óleo fornecido é de qualidade comparável ao obtido por prensagem mecânica, e o processo enzimático evita a degradação térmica de compostos termossensíveis presentes (POLMANN *et al.*, 2019). Proporciona, ainda, a obtenção concomitante de outros produtos de alto valor agregado, como por exemplo, hidrolisados proteicos e compostos fenólicos com alta capacidade antioxidante obtidos de noz pecã, com potencialidades para aplicação no enriquecimento de formulações de alimentos (POLMANN *et al.*, 2021).

O interesse por essa abordagem tecnológica tem aumentado, pois, em comparação com a extração com solvente, o uso de um meio aquoso é muito mais seguro, ambientalmente amigável e econômico, contribui para uma operação muito mais segura e flexível, exige menor consumo de energia, custos operacionais reduzidos e menor investimento de capital (YUSOFF *et al.*, 2015). Além disso, os subprodutos gerados nesta extração podem ser mais facilmente aproveitados, pois estes são hidrolisados enzimáticos que possuem potencialidades para aplicação em alimentos.

A enzima a ser aplicada na extração aquosa depende de fatores como a matéria-prima aplicada, aliado a condições de temperatura, pH, concentração do catalisador e do substrato, dentre outros (JIANG *et al.*, 2010). As enzimas frequentemente usadas para a extração enzimática são proteases e carboidrases (ROSENTHAL *et al.*, 1996).

As enzimas proteolíticas hidrolisam as proteínas nas membranas celulares (contendo oleossomos), bem como no citoplasma. Elas podem afetar a rede citoplasmática, estrutura que engloba parte das proteínas, no caso de sementes oleaginosas, o que permite a fácil remoção de proteínas e lipídios (ROSENTHAL *et al.*, 1996). A Alcalase® é uma protease alcalina produzida comercialmente pela fermentação submersa de uma espécie selecionada de *Bacillus licheniformis*. Em estudos com amendoim (JIANG *et al.*, 2010; LI *et al.*, 2011), obteve-se uma maior recuperação de óleo utilizando Alcalase®, frente a outras enzimas testadas.

Segundo Fireman & Fireman (1998), as carboidrases hidrolisam os carboidratos que estão relacionados ao valor nutricional dos grãos, sendo limitado pelo teor de polissacarídeos não amiláceos insolúveis e polissacarídeos não amiláceos solúveis. A enzima comercial Celluclast® é uma carboidrase produzida por fermentação submersa do fungo *Trichoderma reesei*. Ela catalisa a hidrólise de celulose a glicose, celobiose e oligômeros com alto teor de glicose (SCHMIDT *et al.*, 2009). Estudos como de Santos *et al.* (2005) e Rovaris *et al.* (2013), aplicando extração aquosa enzimática de amendoim e soja, respectivamente, utilizando Celluclast®, obtiveram uma boa recuperação de óleo.

Na extração aquosa assistida por enzimas, podem ser obtidas frações de hidrolisados, por exemplo, de proteínas (OLIVEIRA *et al.*, 2015) e de carboidratos

(ROVARIS *et al.*, 2013) com valor nutricional atrativo, apresentando um perfil químico interessante para potenciais aplicações na área de alimentos.

Estudos prévios desenvolvidos em nosso grupo de pesquisa desenvolveram um processo para a extração aquosa enzimática visando a obtenção de óleo de noz pecã (POLMANN *et al.*, 2019) e de hidrolisados com capacidade antioxidante a partir desta oleaginosa (POLMANN *et al.*, 2021). Outros estudos reportados na literatura envolvem a obtenção de óleo e proteína de torta de amêndoa (SOUZA *et al.*, 2019) e a extração aquosa enzimática para obtenção de óleo e proteína de amendoim (LATIF *et al.*, 2013).

Com base nos aspectos abordados, percebe-se a necessidade do desenvolvimento de um processo sustentável, que proporcione o aproveitamento integral de nozes, castanhas e amendoim, ou dos coprodutos do seu processamento (especialmente a torta de prensagem), visando a extração de óleo, bem como de coprodutos de alto valor agregado. Prioriza-se, assim, a aplicação do conceito de biorrefinaria no processamento de alimentos.

Em paralelo, sabe-se que, dentre os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) da Organização das Nações Unidas (ONU), o ODS 3 pretende assegurar uma vida saudável e promover o bem-estar para todas as pessoas de todas as idades, ao passo que o ODS 12 visa assegurar padrões de produção e de consumo sustentáveis. Assim, estudos sobre tecnologias verdes na cadeia de processamento de alimentos visam reduzir o desperdício de alimentos e diminuir a geração de resíduos, causando menos impactos ambientais (ONU-BRASIL.UN.ORG.BR).

Na literatura, já existe uma revisão recente que indica a possibilidade de aplicação da extração aquosa enzimática para a obtenção de óleo de nozes e castanhas (FERREIRA *et al.*, 2022). Esta publicação, no entanto, foca em um levantamento feito com base em artigos científicos sobre o assunto. Assim, o foco do presente estudo foi identificar as invenções relacionadas à extração aquosa assistida por enzimas de óleo a partir de nozes, castanhas e amendoim, visando a aplicação futura desta tecnologia para a obtenção de óleo de sementes oleaginosas. Realizou-se uma busca de patentes, nas bases de dados *Espacenet*® e INPI, com palavras-chave específicas sobre o assunto sob investigação.

Com base nessas considerações iniciais, os dados levantados na presente pesquisa poderão ressaltar as potencialidades de uso da extração aquosa assistida

por enzimas como uma tecnologia alternativa e verde que pode contribuir para a sustentabilidade na cadeia de nozes, castanhas e amendoim.

Este trabalho está dividido em capítulos, conforme segue: Objetivos (geral e específicos), seguido da Revisão Bibliográfica. Na revisão da literatura, descrevemos a composição físico-química e os diferentes métodos de extração de óleo de nozes, castanhas e amendoim, e também a extração aquosa assistida por enzimas. A seguir, são apresentados dois capítulos com a prospecção tecnológica realizada, divididos em um capítulo com a metodologia utilizada no trabalho e outro capítulo contendo os resultados e a discussão sobre a prospecção. Por fim, são apresentados os capítulos de Conclusão e as Referências.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo central deste estudo foi investigar o potencial tecnológico da extração aquosa assistida por enzimas visando a obtenção de óleo funcional, com alta qualidade e rendimento, a partir de nozes, castanhas e amendoim, a partir de dados retirados de bases de patentes.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Fazer um levantamento bibliográfico sobre as tecnologias aplicadas e alternativas para a extração de óleo de nozes, castanhas e amendoim, com foco na extração aquosa assistida por enzimas como um processo disruptivo e verde na cadeia de processamento destas oleaginosas;
- Caracterizar o perfil das patentes sobre extração aquosa enzimática de óleo a partir de nozes, castanhas e amendoim, e depositadas em bases de patentes brasileira e internacional;
- Identificar as condições de processo aplicadas nas patentes de extração aquosa enzimática de óleo de nozes, castanhas e amendoim, com base no levantamento das enzimas utilizadas, das condições reacionais empregadas, dos produtos e coprodutos obtidos, bem como das aplicações sugeridas para o óleo obtido, com base nas informações dos documentos selecionados.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE NOZES, CASTANHAS E AMENDOIM

As sementes oleaginosas, de maneira geral, são excelentes fontes de nutrientes de interesse para a dieta humana. De acordo com Souza e Menezes (2004), a composição centesimal das nozes e castanhas indica a presença majoritária de lipídios, juntamente com altos teores de proteínas, fibras alimentares e também a presença de carboidratos (Tabela 1). O mesmo ocorre para o amendoim.

Conforme dados apresentados na Tabela 1, é possível observar a diferença entre as oleaginosas em destaque, chamando a atenção para o elevado teor de lipídios em todas matrizes apresentadas, a saber: 75,39 g/100g na macadâmia, 66,93 g/100g na noz pecã, seguido de 66,67 g/100g na noz, e 66,23 g/100g na castanha-do-brasil.

A composição destas oleaginosas em relação às proteínas também chama a atenção, apresentando 26,43 g/100g no amendoim, 20,56 g/100g na castanha de caju, 20,26 g/100g no pistache e 18,58 g/100g na castanha-do-brasil.

Tabela 1 – Composição centesimal de diferentes nozes, castanhas e amendoim*.

Nozes	Umidade (g/100 g)	Lipídios (g/100 g)	Proteína (g/100 g)	Carboidratos (g/100 g)	Cinzas (g/100 g)	Energia (Kcal/100 g)	Referências
Amendoa* (<i>Prunus dulcis</i>)	39,40	30,11	14,01	14,55	1,93	385,23	SUMMO <i>et al.</i> , 2018
Amendoim (<i>Arachis hypogaea</i>)	5,9±0,04	50,90±0,93	26,43±1,15	-	2,17±0,04	-	SHIBLI <i>et al.</i> , 2019
Avelã (<i>Corylus avellana</i>)	6,18±0,09	62,43±1,12	12,15±0,20	16,45±0,46	2,79±0,02	676,3±0,76	KRÓL <i>et al.</i> , 2019
Castanha do brasil (<i>Bertolletia excelsa</i>)	3,185±0,134	66,239±0,21	18,582±0,299	8,759±0,83	3,322±0,014	702,364	DOS SANTOS <i>et al.</i> , 2011
Castanha de caju (<i>Anacardium occidentale</i>)	1,81±0,01	48,38±0,05	20,56±0,06	62,7±0,06	3,4±0,06	-	OGUNWOLU <i>et al.</i> , 2010
Macadamia* (<i>Macadamia</i>)	1,61±0,04	75,39±0,44	7,5±0,2	11,89±0,90	1,5±0,02	-	MERELES <i>et al.</i> , 2017
Noz* (<i>Juglans regia</i> L)	1,91±0,82	66,67±1,19	11,56±1,20	18,28±1,83	1,58±0,27	719±3,38	LIU <i>et al.</i> , 2020
Noz pecã* (<i>Carya illinoensis</i>)	3,30±0,02	62,20±0,53	8,60±0,10	13,40±0,53	1,80±0,02	644,97	POLMANN <i>et al.</i> , 2019
Pistache (<i>Pistacia vera</i>)	3,13±0,09	50,11±1,34	20,26±0,27	23,88±0,97	2,52±0,02	-	LING <i>et al.</i> , 2016

*Dados expressos em base úmida.

A composição em ácidos graxos dos óleos destas matérias-primas pode ser observada na Tabela 2, para fins de comparação.

Tabela 2 - Composição em ácidos graxos (%) do óleo extraído de nozes, castanhas e amendoim.

Ácidos Graxos												
Amostras	14:0	16:0	16:1	17:0	18:0	18:1	18:2	18:3	20:0	20:1	22:0	22:1
Amêndoa	0,06	6,85	0,63	ND	1,29	69,24	21,52	0,16	0,16	ND	0,05	ND
Amendoim	0,03	11,0	0,15	ND	2,66	38,41	44,6	0,58	1,57	ND	0,1	ND
Avelã	0,13	5,82	0,29	ND	2,74	79,30	10,39	0,46	0,16	ND	ND	ND
Castanha-do-brasil	0,06	13,5	0,33	0,22	11,77	29,09	42,80	0,20	0,54	0,21	0,12	0,34
Castanha de caju	0,07	9,93	0,36	0,14	8,70	57,24	20,80	0,23	0,97	0,25	0,39	0,28
Noz	0,13	6,70	0,23	ND	2,27	21,0	57,46	11,58	0,08	ND	0,07	ND
Noz macadâmia	0,95	8,37	17,28	ND	3,17	65,15	2,31	0,06	2,28	ND	0,2	ND
Nogueira	ND	4,28	0,09	0,10	1,80	40,63	50,31	0,65	Tr	1,21	0,16	0,25
Pinho	ND	6,87	0,14	0,10	4,48	39,55	45,41	0,63	1,04	1,06	0,33	0,40
Pistache	0,09	7,42	0,70	ND	0,86	58,19	30,27	0,44	0,59	0,60	0,34	0,57

Fonte: Maguire *et al.*, (2004); Ryan *et al.*, (2006).

Na Tabela 3, é observada a composição em tocoferóis e fitosteróis de diferentes nozes e castanhas, bem como os compostos fenólicos totais presentes. A castanha-do-brasil apresenta uma concentração de tocoferóis de destaque, quando comparada com outras nozes e castanhas. Nesta oleaginosa, o gama-tocoferol é o que está presente em maior concentração e o alfa-tocoferol encontra-se em menor concentração.

Tabela 3 – Concentração média de tocoferóis ($\mu\text{g/g}$ de óleo) e fitosteróis ($\mu\text{g/g}$ de óleo) e composição média em compostos fenólicos totais ($\text{mg}/100\text{ g}$) e flavonoides totais ($\text{mg}/100\text{ g}$) de óleos extraídos de castanhas e nozes.

Amostra de óleo	Tocoferol		Fitosterol			Compostos fenólicos totais	Flavonoides totais
	α	γ	B-sitosterol	Campesterol	Estigmasterol		
Amêndoa	439,5	12,5	2071,7	55,0	51,7	212,9	93,5
Avelã	310,1	61,2	991,2	66,7	38,1	314,8	113,7
Castanha-do-brasil	82,9	116,2	1325,4	26,9	577,5	169,2	107,8
Castanha de caju	3,6	57,2	1768,0	105,3	116,7	316,4	63,7
Noz macadâmia	122,3	Tr	1506,7	73,3	38,3	497,8	137,9
Noz pecã	12,2	168,5	1572,4	52,2	340,4	1463,9	704,7
Noz comum	20,6	300,5	1129,5	51,0	55,5	1580,5	744,8
Pistache	15,6	275,4	4685,9	236,8	663,3	571,8	143,3

Fonte: Adaptado de Yang (2009).

As nozes são as sementes em que os compostos fenólicos são encontrados em maior quantidade, conforme indicado na Tabela 3. Dentre eles, os flavonoides e os ácidos fenólicos são os compostos encontrados com maior frequência nestas sementes, principalmente os ácidos cafeico, gálico, vanílico, dentre outros (COSTA *et al.*, 2011).

Como visto, as oleaginosas são fontes de óleo e de outras substâncias que as tornam funcionais e podem agregar valor a diversos produtos. Devido à presença majoritária de lipídios nestas matrizes, o conhecimento e o estudo de processos visando a extração de óleo são relevantes para a cadeia produtiva destas oleaginosas.

3.2 OBTENÇÃO CONVENCIONAL E ALTERNATIVA DE ÓLEO A PARTIR DE NOZES, CASTANHAS E AMENDOIM

A obtenção de óleo a partir de frutos e sementes oleaginosos pode ocorrer por diferentes métodos de extração, dentre eles, a prensagem mecânica, prensagem hidráulica a frio, extração com solventes (CATALAN *et al.*, 2017), extração com fluido sub/supercrítico, fluido pressurizado (ZANQUI *et al.*, 2020), extração aquosa (ROSENTHAL *et al.*, 1996) e extração aquosa assistida por enzimas (POLMANN *et al.*, 2019). Atualmente, os métodos mais utilizados para matérias-primas como nozes,

castanhas e amendoim são por extração mecânica. Rosenthal *et al.* (1996) relatam que os métodos físicos ou químicos são normalmente utilizados em matérias-primas com concentração de óleo acima de 35%, como linhaça, girassol, nozes, sementes de algodão e gérmen de trigo.

A prensagem mecânica pode ser realizada em prensa hidráulica e ou rosca extrusora, que resultam em rendimentos de óleo entre 70-80% e 80-90%, respectivamente (GONG *et al.*, 2015). Um estudo realizado por Maciel *et al.* (2020), ao realizar a prensagem mecânica a frio para a obtenção de óleo de noz pecã com umidade de 3,37 %, resultou em um rendimento de 73,23 %.

O método de extração mecânica a frio não requer tratamento prévio para sua aplicação em amêndoas da matéria-prima, sendo que as células da amêndoa são rompidas de forma mecânica sob pressões semelhantes às da extração subcrítica (3 a 5 MPa), quando a extração ocorre à temperatura ambiente, é denominada de prensagem mecânica a frio e, quando há aquecimento, é denominada somente de prensagem mecânica (ÇAKALOGLU *et al.*, 2018).

Após a extração, os fluidos celulares da amêndoa saem em conjunto com o óleo, formando uma solução bifásica. Para diminuir esta formação, é recomendado que seja feita uma secagem prévia da matéria-prima, sendo que a temperatura de 40 °C é normalmente aplicada (ÇAKALOGLU *et al.*, 2018). Entretanto, quando ocorre a formação da solução bifásica, é comum utilizar solventes posteriormente à aplicação da prensagem mecânica. Este processo pode ser realizado por meio do método de extração com solvente (*n*-hexano) (PACHECO & SCUSSEL, 2006), por exemplo. A combinação dos processos de extração mecânica e extração usando solventes torna o processo longo, mais caro e poluente (RONCERO *et al.*, 2015).

O uso de rosca extrusora (*expeller*) é uma alternativa para a extração mecânica de óleo de matérias-primas oleaginosas. Segundo o estudo de Riaz *et al.* (2009), a farinha parcialmente desengordurada foi produzida através do método de extrusão a seco e prensagem de rosca, sendo que o processo de extrusão removeu cerca de 50% do óleo original do amendoim, resultando em uma torta de prensagem de qualidade, com cerca de 47 % de proteínas.

O processo de extração de óleo com solventes exige a realização de, basicamente, dois tratamentos prévios da matéria-prima (KLUCZKIVSKI *et al.*, 2015; CATALÁN *et al.*, 2017). O primeiro tratamento é a secagem, que pode ser realizada

em estufa ou ao sol, com a posterior moagem das amêndoas. No entanto, esses tratamentos são de extrema importância durante o processo de extração, pois, segundo Abdolshahi *et al.* (2015), processos térmicos acima de 40 °C tendem a degradar compostos bioativos em qualquer semente oleaginosa, bem como diminuir sua estabilidade oxidativa. Além disso, efeitos prejudiciais sobre os parâmetros da qualidade do óleo são maiores quando uma moagem é realizada incorretamente, principalmente, devido ao calor gerado durante este processo. Outro problema comum é a granulometria da moagem, que irá limitar a extração do óleo, no caso de uma baixa área superficial.

Existe uma grande variedade de métodos para extração de óleo usando solventes, dentre aqueles considerados convencionais. Os solventes empregados nestes métodos são de natureza orgânica (hexano, éter etílico), na maioria das vezes tóxicos e poluentes, com exceção do etanol, que é produzido através de fontes renováveis e biodegradáveis, e é considerado um solvente não tóxico (CONAB, 2008). Além disso, deve-se considerar a polaridade dos solventes utilizados, pois a mesma pode alterar o perfil de ácidos graxos do óleo extraído (ABDOLSHAHI *et al.*, 2015).

Freitas *et al.* (2008) utilizaram etanol comercial para a extração e o fracionamento simultâneo das frações lipídicas da castanha-do-brasil. A proposta foi eliminar o uso de *n*-hexano na extração de óleos vegetais. A fase que é chamada de micela rica apresentou consistência em gel, contendo em média 75 % de óleo e 25 % de etanol, já a fase sobrenadante, considerada fase aquosa apresentou em média 2,4% de óleo e 97,6 % de etanol. A maior parte do óleo ficou retida na micela rica. Segundo os autores, o rendimento de extração foi cerca de 75 %, valor inferior aos obtidos com *n*-hexano (99 %), além disso relatam que isso ocorre devido ao elevado teor de óleo que a castanha-do-brasil possui e a baixa solubilidade dos óleos em etanol a determinadas temperaturas.

De acordo com Firestone (1999), óleos extraídos por meios físicos não precisam ser refinados, tendo qualidade superior aos óleos extraídos por solvente e ainda podem ser chamados de “óleo extravirgem”. Na extração a frio, ocorre a preservação de substâncias com capacidade antioxidante presente nestas matrizes vegetais como, por exemplo, os compostos fenólicos e os tocoferóis, assim como a manutenção da qualidade sensorial do óleo. Um fator limitante para a extração

mecânica é o rendimento do processo, influenciado pela umidade da matéria-prima, pois altos teores de umidade resultam em baixa porcentagem de extração.

Fonseca (2016) relata que o uso da prensa, comparado com o uso de solventes na extração de óleo, pode ser vantajoso pelo baixo custo e versatilidade. O processo mecânico garante a estabilidade dos componentes do óleo e da torta de prensagem obtida como coproduto, evitando a desnaturação proteica e gerando uma torta livre de resíduos de solvente.

De acordo com Firestone (1999), óleos extraídos com solventes não podem ser considerados virgens, ou extravirgens, devido à inserção de agentes químicos para sua extração. Além disso, o uso de solventes pode acarretar efeitos negativos quanto à qualidade sensorial deste óleo, pois este sofrerá tratamentos térmicos para a remoção do solvente, ficando mais suscetível à oxidação e apresentando, conseqüentemente, menor qualidade (CATALÁN *et al.*, 2017). Outro fator importante é que alguns solventes são altamente inflamáveis, tóxicos e responsáveis pela emissão de compostos orgânicos voláteis (COV). Desta forma, preocupações com o meio ambiente, a segurança e a saúde da população fazem com que seja incentivada a busca por processos alternativos ao uso de solventes (ROSENTHAL *et al.*, 2001).

Métodos alternativos aos tradicionais vêm sendo pesquisados ao longo dos anos, como a extração sub/supercrítica, a extração com fluidos pressurizados, a extração aquosa e a extração aquosa assistida por enzimas.

A extração com fluido sub- e supercrítico é um método de extração usando solventes, também conhecido como “extração não convencional”. Este método tem o mesmo princípio de qualquer outra extração, que é solvatar os ácidos graxos e removê-los. Basicamente, o gás utilizado é submetido a altas pressões (7 a 10 MPa) e ao calor (30 a 60 °C), tornando-se um fluido que se apresenta no estado gasoso e líquido ao simultaneamente, caracterizando, assim, o estado crítico. Existem variações deste estado, podendo ser antes do ponto crítico (sub), ou após o ponto crítico (super). O CO₂ é o solvente mais utilizado neste método e, trata-se de um gás utilizado em condições normais de temperatura e pressão, deste modo, a torta e o óleo não são submetidos a tratamento térmico para a remoção do solvente, permitindo a preservação de ambos os produtos. Além da conservação da qualidade do óleo e da torta obtidos, este é um método considerado não agressivo ao meio ambiente (SALVADOR *et al.*, 2016; CATALÁN *et al.*, 2017).

Um inconveniente deste processo é que, por ser um tratamento térmico a altas pressões, pode influenciar negativamente os compostos bioativos presentes no óleo, e conseqüentemente reduzir sua vida-de-prateleira. No intuito de encontrar uma alternativa para reduzir a temperatura e a pressão do processo, mas mantendo a capacidade extratora, Teixeira e colaboradores (2018) usaram propano para extrair o óleo da noz de sapucaia (*Lecythis pisonis*). Seus resultados demonstraram que o propano subcrítico obteve melhor rendimento do que o CO₂ supercrítico, mas ainda a uma elevada temperatura (60 °C) e pressão de 10 MPa. Os ácidos graxos oleico e linoleico foram os predominantes na composição dos óleos obtidos, aplicando-se os diferentes métodos e condições. Santos *et al.* (2013) usaram fluido supercrítico para a extração de óleo de castanha-do-brasil e obtiveram em um rendimento de 67,2 % a uma temperatura de 60° C e 300 bar de pressão. A qualidade do óleo obtido estava dentro da legislação como, por exemplo, o índice de acidez de 0,615% de ácidos graxos livres e valores de índice de peróxidos de 2,4 mEq kg⁻¹, além do perfil de ácidos graxos apresentarem uma maior proporção de ômega 3,6 e 9. Porém, o alto custo do equipamento e a complexidade da operação em larga escala podem limitar o uso desta tecnologia (CHEN *et al.*, 2016).

Em relação aos aspectos indesejáveis que envolvem a extração de óleo utilizando solventes, destacam-se os ambientais, econômicos, de segurança e de qualidade. Por este motivo, o método de extração aquosa e/ou extração aquosa assistida por enzimas vem ganhando espaço, devido às condições brandas, reduzindo o consumo de energia, garantindo a qualidade do óleo extraído e das frações obtidas paralelamente, e promovendo, ainda, menor impacto ambiental (FREITAS *et al.*, 1996).

3.3 EXTRAÇÃO AQUOSA ASSISTIDA POR ENZIMAS PARA A OBTENÇÃO DE ÓLEO

Métodos de extração alternativos visando o aproveitamento máximo das porções lipídicas presentes em diferentes matrizes têm despertado interesse em diversas pesquisas acadêmicas e na indústria. Busca-se atingir melhores condições de processo, a fim de aumentar o rendimento, reduzir os custos e aumentar a produtividade tanto de óleo como dos subprodutos oriundos destas matérias-primas,

diminuindo a geração de resíduos e o seu descarte no meio ambiente, além de agregar valor a este material (DUNFORD *et al.*, 1953; SANTOS, 2012).

Um dos métodos associado a extração aquosa enzimática, é o uso de ultrassom, que visa o tratamento prévio da matéria-prima, com o posterior uso de enzimas, esta combinação permite modificações na estrutura da matriz, expondo componentes, facilitando o acesso ao substrato no meio aquoso. Esta combinação pode melhorar o rendimento do processo de extração de óleo e das frações paralelas (aquosa e sólida) (LI *et al.*, 2011; SHARMA *et al.*, 2006). De acordo com Nogueira *et al.* (2022), a combinação dos métodos melhora o tempo e aumenta o rendimento da extração de óleo, além de permitir a obtenção de um produto de qualidade, e pela ausência de solventes orgânicos tóxicos, torna o processo limpo, colaborando com a sustentabilidade do mesmo.

Outro método associado à extração aquosa enzimática é a irradiação por micro-ondas. Este pré-tratamento faz com que as barreiras da estrutura celular se rompam, aumentando a liberação dos compostos-alvo da matriz. Ma *et al.* (2021) obtiveram um rendimento de $58,09 \pm 0,63\%$ de extração de óleo de macadâmia com a combinação dos métodos de micro-ondas e extração aquosa enzimática, além de terem obtido um óleo com excelente capacidade antioxidante.

No método de extração com solvente, o óleo é dissolvido e extraído pelo mesmo, sendo que os resíduos de solvente orgânico podem provocar a contaminação do ambiente. Na extração aquosa, o óleo não apresenta afinidade pelo meio extrator, ou seja, a água não tem potencial para dissolver os lipídios. A diferença de densidade entre o óleo e a água é utilizada para a separação da fração lipídica. O processo de extração sem solvente basicamente se resume à moagem da matéria-prima, à separação sólido-líquido, seguido de centrifugação, desemulsificação (se necessário) e secagem. Neste processo, pode ser aplicada temperatura para auxiliar na extração do óleo. A centrifugação é feita para separar os extratos aquosos, a saber: fases oleosa, sólida e líquida (LUSAS *et al.*, 1982; ROSENTHAL *et al.*, 2001). Este processo é usado não apenas para a extração de lipídios, mas também para se obter, paralelamente, proteínas de alta qualidade. Isto é garantido devido ao fato de que este processo é considerado limpo e seguro, sem a aplicação de solventes orgânicos. Na extração, também podem ser aplicadas condições mais brandas, mediante a adição de enzimas ao meio (DUNFORD *et al.*, 1953; ZHANG *et al.*, 2016).

A extração aquosa assistida por enzimas utiliza catalisadores que hidrolisam a parede celular e as membranas dos oleossomos, liberando o óleo em meio aquoso (DUNFORD *et al.*, 1953; RIBEIRO *et al.*, 2016). O princípio desta tecnologia consiste em digerir as paredes celulares da matéria-prima com o uso de enzimas para a extração simultânea do óleo, da proteína e de outros componentes presentes no substrato, por meio de condições de processamento brandas, ou seja, temperaturas baixas ou valores de pH ideais para a(s) enzima(s) aplicada(s) (DUNFORD *et al.*, 1953).

Devido à existência de óleo nos espaços intracelulares de vegetais, o processo consiste em atuar na estrutura das células, para melhorar a exposição de óleo para o meio aquoso. A utilização de enzimas no processo permite um aumento no rendimento da fração lipídica obtida (FREITAS *et al.*, 2008; ROVARIS *et al.*, 2013).

O método consiste no uso de uma enzima ou de combinações de enzimas com especificidade frente aos substratos presentes, que variam conforme a composição da matriz (vegetal, por exemplo). Os catalisadores mais utilizados no processo de extração aquosa são as proteases e as carboidrases (FREITAS *et al.*, 2008; ROVARIS *et al.*, 2013).

As proteases hidrolisam as proteínas presentes nas membranas celulares, dentro do citoplasma e também as membranas citoplasmáticas, que é a estrutura que envolve as proteínas, permitindo a remoção de proteínas e de lipídios da célula (ROSENTHAL *et al.*, 1996). As enzimas proteolíticas modificam as células durante a extração aquosa, hidrolisando as proteínas da parede celular e das pseudo-membranas que envolvem as gotas de óleo, aumentando, assim, o rendimento do processo (ROSENTHAL *et al.*, 1996; SMITH *et al.*, 1993).

Uma das proteases mais usadas neste processo é a Alcalase®, comercialmente produzida por fermentação de *Bacillus licheniformis*. Apresenta especificidade e capacidade de hidrólise de proteínas vegetais. Sua temperatura ótima de atuação é em torno de 60 °C, e o pH fica entre 6,5 e 8,5. A Alcalase®, por ser uma endoproteinase, é capaz de diminuir o peso molecular e melhorar as propriedades funcionais de proteínas, liberando hidrolisados proteicos, inclusive aminoácidos livres (YANG *et al.*, 2011; SMITH *et al.*, 1993).

As carboidrases, por sua vez, são enzimas que catalisam a hidrólise de carboidratos, bem como a reação inversa da hidrólise e reações transglicosídicas. São

específicas ao tipo de monossacarídeo envolvido na ligação, também à posição do resíduo, à configuração (α e β) e à massa molecular do substrato (KOBBLITZ, 2008). Na grande maioria, o emprego dessas enzimas neste processo é ligado à hidrólise de ligações glicosídicas, como as da subclasse 3.2 (celulase, hemicelulase ou ainda a poligalacturonase) e da subclasse 4.2 (pectinoliase). A ação destes catalisadores aumenta a permeabilidade e rompe a parede celular, que é rica em lignocelulose, promovendo a liberação de óleo para o meio aquoso (FERREIRA, 2016).

Dentre as carboidrases, temos a Celluclast®, enzima comercializada pela Novozymes, que é produzida pela fermentação submersa de cepas do fungo *Trichoderma reesei*. Ela atua como catalisador da hidrólise de celulose em glicose, celobiose e polímeros com alto teor de glicose. A temperatura ótima da Celluclast® é de aproximadamente 60 °C e a faixa de atuação de pH é de 4,0 a 5,0 (WIKIERA *et al.*, 2015).

Santos *et al.* (2005) relatam que, além da escolha da enzima adequada, devem-se considerar parâmetros importantes como pH do meio, temperatura, tamanho das partículas e agitação, condições que influenciam o rendimento da extração. Além disso, o processo depende principalmente da composição da matéria-prima usada e das condições reacionais, como tempo, concentração de substrato, carga enzimática (JIANG *et al.*, 2010; SHARMA *et al.*, 2006; YUSOFF *et al.*, 2016).

Tabela 4 – Artigos recentes extraídos da base de dados *Scopus*, relacionados à extração aquosa assistida por enzimas de óleo, a partir de diferentes sementes oleaginosas como nozes, castanhas e amendoim.

Termo(s) pesquisado(s)*	Título	Enzima(s) usada(s)	Autor(es)	Ano
Enzymatic aqueous extraction peanut oil	Composition and structural characterization of peanut crude oil bodies extracted by aqueous enzymatic method	Viscozyme®	Liu, C., Chen, F.-S., Xia, Y.-M.	2022
	Biorefining of Oilcakes from Peanut Oil Industry: Enhanced Recovery of Proteins and Oil with Improved Protein Technofunctional Properties	Alcalase, Neutrase e Flavourzyme	Hariharan, S., Patti, A., Arora, A.	2021
	Aqueous enzymatic extraction of peanut oil body and protein and evaluation of its physicochemical and functional properties	Viscozyme®	Gao, Y., Liu, C., Yao, F., Chen, F.	2021
	Effects of pH on the Composition and Physical Stability of Peanut Oil Bodies from Aqueous Enzymatic Extraction	Celulase, hemicelulose, pectinase e viscozima L	Gao, Y., Zhou, L., Yao, F., Chen, F.	2021
	Composition and rheological properties of peanut oil bodies from aqueous enzymatic extraction	Celulase e pectinase	Niu, R., Chen, F., Liu, C., Duan, X.	2021
Enzymatic aqueous extraction cake oil	Biorefining of Oilcakes from Peanut Oil Industry: Enhanced Recovery of Proteins and Oil with Improved Protein Technofunctional Properties	Alcalase, Neutrase e Flavourzyme	Hariharan, S., Patti, A., Arora, A.	2021
	Biological properties of almond proteins produced by aqueous and enzyme-assisted aqueous extraction processes from almond cake	Endoprotease	de Souza, T.S.P., Dias, F.F.G., Oliveira, J.P.S., de Moura Bell, J.M.L.N., Koblitz, M.G.B.	2020
	Effects of enzymatic extraction of oil and protein from almond cake on the physicochemical and functional properties of protein extracts	Protease	de Souza, T.S.P., Dias, F.F.G., Koblitz, M.G.B., de Moura Bell, J.M.L.N.	2020
	Aqueous and enzymatic extraction of oil and protein from almond cake: A comparative study	Protease	Souza, T.S.P., Dias, F.F.G., Koblitz, M.G.B., de M. Bell, J.M.L.N.	2019
Enzyme-assisted aqueous extraction cake oil	Characterisation of protein concentrates from pressed cakes of Guevina avellana (Chilean hazelnut)	Celluclast	Moure, A., Domínguez, H., Zúiga, M.E., Soto, C., Chamy, R.	2002
	Biological properties of almond proteins produced by aqueous and enzyme-assisted aqueous extraction processes from almond cake	Endoprotease	de Souza, T.S.P., Dias, F.F.G., Oliveira, J.P.S., de Moura Bell, J.M.L.N., Koblitz, M.G.B.	2020
	Effects of enzymatic extraction of oil and protein from almond cake on the physicochemical and functional properties of protein extracts	Protease	de Souza, T.S.P., Dias, F.F.G., Koblitz, M.G.B., de Moura Bell, J.M.L.N.	2020
	Aqueous and enzymatic extraction of oil and protein from almond cake: A comparative study	Protease	Souza, T.S.P., Dias, F.F.G., Koblitz, M.G.B., de M. Bell, J.M.L.N.	2019

Fonte: Elaborada pelo autor (2022). *Os termos apresentados em inglês foram apresentados nesta tabela conforme realizado na pesquisa.

Os estudos encontrados foram realizados com matérias-primas diversas e indicam que a extração aquosa enzimática é um método atrativo e alternativo de extração em relação aos métodos convencionais, aliado ao fato da possibilidade de se obterem subprodutos (frações) com valor nutricional para aplicação em alimentos, dentre outros. Polmann *et al.* (2019), por exemplo, obtiveram rendimento de óleo de 65,3 % usando a extração aquosa assistida de noz pecã utilizando Alcalase. Jiang *et al.* (2010) obtiveram rendimento de 78,5 % na extração de óleo de amendoim usando Alcalase.

De acordo com os dados da Tabela 4, é possível observar que os estudos consultados focaram na extração de óleo e/ou proteína de amendoim, amêndoa e avelã. As enzimas utilizadas foram principalmente proteases e carboidrases, dentre outras. Os estudos citados nesta tabela são recentes, sendo que a maioria foi publicada nos anos de 2019 a 2022.

3.3.1 Vantagens e desvantagens da extração aquosa assistida por enzimas

Conforme já comentando, a extração de óleo por métodos convencionais utilizando solventes orgânicos envolve desvantagens ambientais, econômicas, de segurança e de qualidade do produto final. A aplicação de enzimas na extração de óleo, por sua vez, apresenta diversas vantagens, já que estes catalisadores geralmente atuam sob condições brandas, reduzindo o consumo de energia do processo, permitindo a conservação da qualidade do óleo extraído e das frações obtidas paralelamente, os quais são produzidos com alta qualidade, e promovendo, ainda, menor impacto ambiental (FREITAS *et al.*, 1996).

A extração aquosa assistida por enzimas é uma alternativa limpa para a extração de óleo, por não usar nenhum tipo de solvente orgânico para a obtenção desta fração e por ocorrer sob condições brandas (DUNFORD *et al.*, 1953; RIBEIRO *et al.*, 2016). É um processo que vem sendo estudado com uma série de oleaginosas, por ser uma alternativa sustentável em relação aos outros métodos de extração de óleos (POLMANN *et al.*, 2019) e por proporcionar a obtenção concomitante de outros produtos de alto valor agregado, a saber: monossacarídeos (ROVARIS *et al.*, 2012), hidrolisados proteicos e compostos fenólicos (POLMANN *et al.*, 2021), dentre outros.

A extração via enzimática pode ser considerada uma tecnologia verde, pois prioriza a sustentabilidade do processo, por não envolver o uso de solventes

orgânicos, o que reduz a toxicidade e o custo desta tecnologia. A obtenção de produtos de qualidade nutricional e sensorial desejada também se constitui em uma importante vantagem do processo enzimático (ROSENTHAL *et al.*, 1996; ROVARIS *et al.*, 2013). Este processo se baseia em condições brandas (pressão e temperatura) e gera subprodutos que possuem um grande potencial de transformação em produtos de interesse comercial por meio do conceito de biorrefinaria e economia circular, especialmente devido à especificidade das enzimas.

Hu *et al.* (2017), por exemplo, avaliaram as propriedades funcionais da fração proteica extraída de farinha desengordurada de torta de noz (“walnut”) obtida por meio de três diferentes métodos prensagem. Os autores obtiveram os valores mais altos de rendimento (67,29%) e de teor de proteínas (92,58%) no processo de extração usando micelas reversas assistido pela enzima Alcalase®, quando em comparação com os demais métodos estudados (micelas reversas em AOT e extração em fase aquosa). No estudo citado, entretanto, o grau de hidrólise do substrato por ação da protease aplicada não foi determinado. Os pesquisadores observaram que a formação de espuma, a capacidade de retenção de água, a solubilidade, a capacidade de emulsificação e a capacidade de retenção/absorção de óleo também foram afetadas pelo processo de extração aplicado na matéria-prima, sendo que os melhores resultados foram alcançados quando se aplicou micelas reversas, especialmente em combinação com a Alcalase®. Também concluíram que o pH do meio e a concentração de sal afetaram as características avaliadas. Os autores relataram que a ação da protease permitiu modificações na estrutura proteica (liberação de frações proteicas menores, mudanças conformacionais, por exemplo), o que permitiu uma maior interação entre as moléculas presentes no meio, o que foi favorecido na presença de AOT. Os produtos obtidos têm potencialidades para uso como ingrediente na formulação de diferentes alimentos, como produtos assados, doces e refrigerantes.

Uma das principais desvantagens da extração aquosa assistida por enzimas a partir de oleaginosas é a quantidade de catalisadores usados durante a hidrólise, que costuma ser superior a 1 % em relação à massa da matéria-prima. Este fato pode limitar economicamente o uso de biocatalisadores, devido ao seu custo (SANTOS *et al.*, 2005) e à dificuldade de reaproveitamento destes no processo supracitado. Rovaris *et al.* (2013) relatam que o baixo rendimento de óleo e a formação de emulsão

em algumas matérias-primas são fatores desfavoráveis a este método. A emulsificação ocorre devido à presença de proteínas e de fosfolípidios, como a lecitina, que atua como emulsificante. Caso isto ocorra, é necessário fazer a desemulsificação do produto obtido após a hidrólise. No estudo realizado por Polmann *et al.* (2019), não foi verificada emulsificação da noz pecã em processo de extração aquosa assistida por protease ou celulase.

As desvantagens econômicas do processo assistido por enzimas podem ser revertidas mediante a otimização do processo de extração com enzimas e a prospecção de catalisadores alternativos para a catálise. Além disso, a valorização dos coprodutos obtidos na extração enzimática de óleo pode justificar o emprego de hidrolases neste processo. Um ponto chave para o sucesso da extração assistida por enzimas é o conhecimento sobre a composição e a estrutura celular do substrato, para a escolha da enzima mais adequada para a sua modificação.

Percebe-se que a extração aquosa assistida por enzimas tem potencialidades para uso na obtenção de óleo a partir de diversas nozes, castanhas e amendoim.

3.4 OBTENÇÃO E COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA TORTA DE PRENSAGEM DE NOZES, CASTANHAS E AMENDOIM

Um dos métodos mais utilizados para extração de óleo de nozes, castanhas e amendoim é a prensagem mecânica (SANTOS *et al.*, 2013). Nesta tecnologia, entretanto, não há uma extração completa do óleo presente na matéria-prima, devido ao alto teor desta fração nestas matrizes e à baixa porcentagem de sólidos na mesma. Por esta razão, se faz necessário o uso posterior de solventes para garantir um melhor rendimento no processo (PACHECO & SCUSSEL, 2006).

Neste processo para a obtenção de óleo, as matrizes são previamente beneficiadas mediante a aplicação de diferentes operações unitárias, que incluem o descascamento da matéria-prima. Após a prensagem mecânica, a torta é obtida como resíduo.

De acordo com Souza *et al.*, (2004), a torta de prensagem apresenta inúmeras aplicações, podendo enriquecer uma gama de produtos nas áreas de panificação, bebidas, embutidos, farinhas, leites, biscoitos, dentre outros. Este material apresenta uma composição atrativa para aplicação na formulação de produtos, apresentando-se

como uma opção ao descarte, desperdício ou subaproveitamento deste material (GOMES *et al.*, 2015).

Santos *et al.* (2013) mencionam que, com exceção dos lipídios, os demais componentes da matéria-prima não são transferidos para o óleo em quantidades relevantes, por isso ficam retidos no resíduo sólido da extração, ou seja, na torta de prensagem.

A torta gerada como resíduo na prensagem contém altos teores de proteínas e de fibras, podendo apresentar alta concentração de óleo residual (GLÓRIA *et al.*, 2000; GOMES *et al.*, 2015). Conforme apresentado na Tabela 5, podemos observar as diferenças na composição das tortas das oleaginosas em destaque, pelo elevado teor de proteínas, para avelã (97,3 g/100g), noz (52,51 g/100g) e amendoim (46,8 g/100g) e para o residual teor de lipídios, 25,5 g/100g para castanha de caju, 21,9 g/100g para pistache e 19,24 g/100g para macadâmia.

Tabela 5 - Composição da torta de prensagem de diferentes sementes oleaginosas (nozes, castanhas e amendoim).

Nozes	Umidade (g/100 g)	Lipídios (g/100 g)	Proteína (g/100 g)	Carboidratos (g/100 g)	Cinzas (g/100 g)	Fibra alimentar (g/100 g)	Energia (Kcal/100 g)	Referências
Amêndoa (<i>Prunus dulcis</i>)	8,35	3,63	7,33	78,96	17,11	-	365,76	AYDOS <i>et al.</i> , 2019
Amendoim (<i>Arachis hypogaea</i>)	6,13	7,75	46,8	41,23	4,22	-	578,3	RIAZ <i>et al.</i> , 2009
Avelã (<i>Corylus avellana</i>)	8,3	9,2	97,3	48,0	5,5	-	-	SEN <i>et al.</i> , 2020
Castanha-do-brasil (<i>Bertolletia excelsa</i>)	6,8	19,17	28,34	17,12	6,06	18,32	444,41	FERREIRA <i>et al.</i> , 2009
Castanha de caju (<i>Anacardium occidentale</i>)	4,2	25,5	28,03	38,55	3,67	-	496,16	BADJÉ <i>et al.</i> , 2018
Macadâmia (<i>Macadamia</i>)	2,07	19,24	11,57	64,26	1,93	-	476,48	RAO <i>et al.</i> , 2020
Noz (<i>Juglans regia</i> L)	9,2	1,8	52,51	34,55	1,94	-	-	MAO <i>et al.</i> , 2012
Noz pecã (<i>Carya illinoensis</i>)	5,03	16,64	21,87	40,5	2,97	13,01	398,81	MACIEL <i>et al.</i> , 2020
Pistache (<i>Pistacia vera</i>)	6,01	21,9	36,99	36,61	4,5	-	-	LING <i>et al.</i> , 2016

A fim de valorizar sementes oleaginosas como nozes, castanhas ou amendoim, ou, ainda, os coprodutos gerados na prensagem mecânica destas matrizes de origem vegetal, a busca por processos alternativos para o seu aproveitamento, como a

extração aquosa e/ou a extração aquosa assistida por enzimas, é relevante para o desenvolvimento científico e tecnológico nas cadeias de valor destas matérias-primas.

4 METODOLOGIA

Foi realizada uma busca de patentes no banco de dados da *European Patent Office (Espacenet®)* e do Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI) nos meses de março a junho de 2022. Inicialmente, foram feitas combinações da terminologia a ser aplicada para as buscas, de forma a identificar as mais adequadas para o estudo.

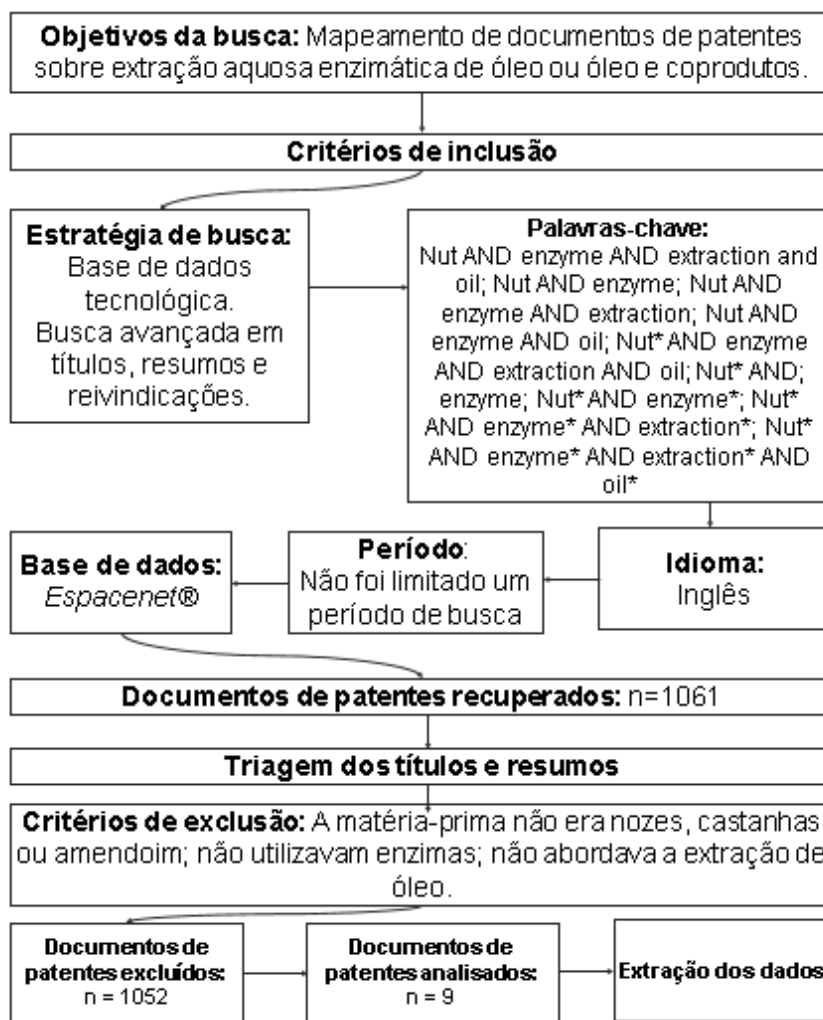
Posteriormente, na base de dados Espacenet®, foi realizada uma busca avançada nos resumos das patentes depositadas. As palavras-chave empregadas foram: *Nut and enzyme*, *Nut and enzyme and extraction*, *Nut and enzyme and oil*, *Nut and enzyme and extraction and oil*, *Nut* and enzyme and extraction and oil*, *Nut* and enzyme*, *Nut* and enzyme**, *Nut* and enzyme* and extraction**, *Nut* and enzyme* and extraction* and oil**. O protocolo desta pesquisa está indicado na Figura 1.

Para a busca no banco de dados do INPI, foi realizada uma busca simples dos resumos utilizando as palavras-chave a seguir: extração, óleo, enzima, castanha, noz, isoladas ou associadas de diferentes maneiras. Alternativamente, também se utilizou o termo hidrólise.

A data de publicação das patentes nos dois bancos de dados consultados não foi limitada.

Após a recuperação das patentes, foi feita uma leitura do título e do resumo de todos documentos recuperados no Espacenet® e no INPI, para selecionar as que se encaixavam no tema proposto neste estudo. No Espacenet®, também foi feita a leitura das reivindicações de todas patentes. Então, foram selecionadas somente as patentes referentes à extração aquosa assistida por enzimas de óleo a partir de nozes, castanhas ou amendoim, ou outras oleaginosas similares. No Espacenet®, foram selecionados somente documentos em Inglês.

Figura 1 – Protocolo da pesquisa no Espacenet®, incluindo a terminologia, os critérios de inclusão e exclusão de documentos, e os resultados do mapeamento das patentes.

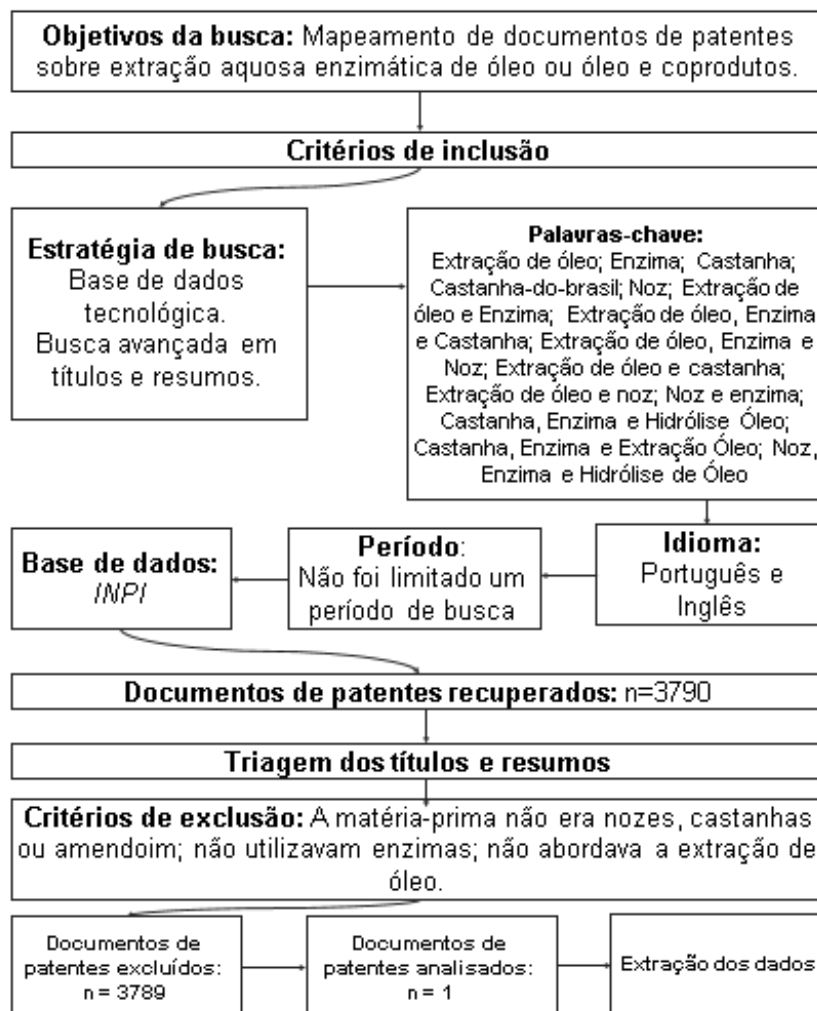


Fonte: Autoria própria (2022).

Foram realizados um mapeamento e a leitura das patentes obtidas conforme as palavras-chave e combinações propostas.

Dos 1061 (Tabela 6) documentos recuperados no Espacenet®, foram eliminados os documentos repetidos. Foram então selecionadas apenas as patentes que investigaram a extração aquosa enzimática de óleo de nozes, castanhas, amendoim e oleaginosas semelhantes, sendo que algumas delas apresentaram, ainda, a liberação de frações obtidas paralelamente à extração, como peptídeos obtidos a partir da hidrólise de proteínas. Após esta seleção, 9 patentes desta base de dados foram escolhidas para uma avaliação aprofundada.

Figura 2 – Protocolo da pesquisa no INPI, incluindo a terminologia, os critérios de inclusão e exclusão de documentos, e os resultados do mapeamento das patentes.



Fonte: Autoria própria (2022).

Os dados foram extraídos para o Microsoft Excel e, em seguida, foram tratados. Foram selecionados apenas os documentos que abordavam a extração de óleo de nozes, castanhas e amendoim, mediante o uso de enzimas, com, eventualmente, a obtenção simultânea de extratos paralelos.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O número de patentes encontradas para as palavras-chave utilizadas no Espacenet® e no INPI está apresentado nas Tabelas 6 e 7.

Tabela 6 – Patentes sobre extração aquosa assistida por enzimas de óleo de nozes, castanhas e amendoim, recuperadas na base de dados da *European Patent Office (Espacenet®)*, por palavras-chave combinadas conforme os termos de interesse para o estudo.

Palavras-chave	Número de patentes
<i>Nut and enzyme</i>	207
<i>Nut and enzyme and extraction</i>	26
<i>Nut and enzyme and oil</i>	41
<i>Nut and enzyme and extraction and oil</i>	8
<i>Nut* and enzyme and extraction and oil</i>	128
<i>Nut* and enzyme</i>	106
<i>Nut* and enzyme*</i>	545
<i>Nut* and enzyme* and extraction*</i>	0
<i>Nut* and enzyme* and extraction* and oil*</i>	0
<i>Total</i>	1061

Fonte: Autoria própria (2022).

Tabela 7 – Patentes sobre extração aquosa assistida por enzimas de óleo de nozes, castanhas e amendoim, recuperadas na base de dados brasileira Instituto Nacional da Propriedade Industrial (INPI), por palavras-chave combinadas conforme os termos de interesse para o estudo.

Palavras-chave	Número de patentes
Extração de óleo	437
Enzima	2925
Castanha	298
Castanha-do-brasil	26
Noz	82
Extração de óleo e Enzima	14
Extração de óleo, Enzima e Castanha	0
Extração de óleo, Enzima e Noz	1
Extração de óleo e castanha	3
Extração de óleo e noz	3
Noz e enzima	1
Castanha, Enzima e Hidrólise Óleo	0
Castanha, Enzima e Extração Óleo	0
Noz, Enzima e Hidrólise de Óleo	0
Total	3790

Fonte: Autoria própria (2022).

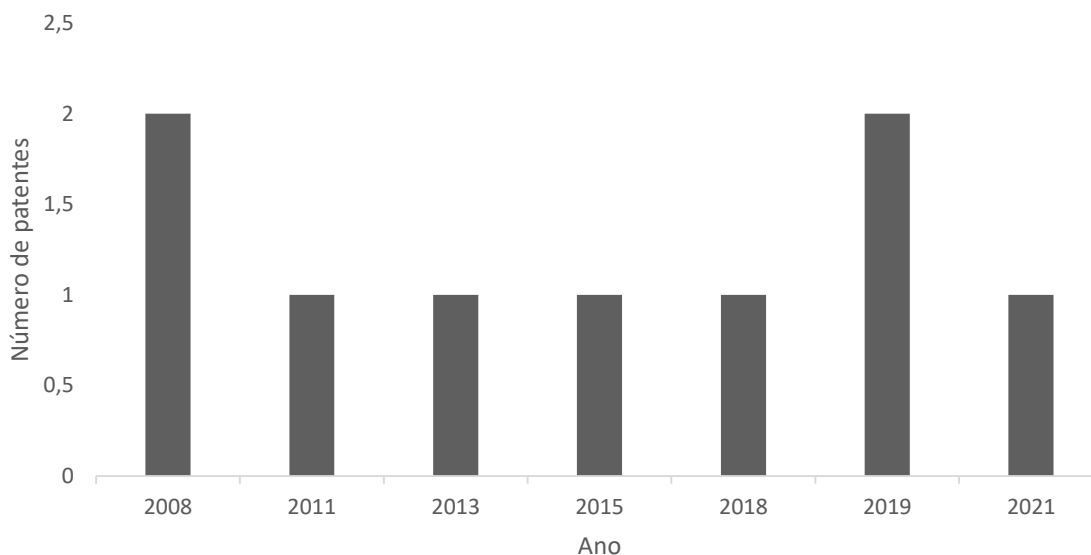
Observou-se que a combinação de palavras-chave que mais se adequou ao tema de interesse, no Espacenet®, foi *Nut and enzyme and extraction and oil* (Tabela 6), que totalizou 8 patentes. A busca que apresentou resultados mais adequados ao assunto de interesse, no INPI, foi Extração de óleo e Enzima, com 14 patentes (Tabela 7).

O levantamento das patentes na base de dados *Espacenet*® e INPI indicou que há invenções relacionadas à extração de óleo de diferentes nozes, castanhas e amendoim. Após a leitura de todas as patentes obtidas nos resultados (Tabela 6 e 7), foram extraídas e abordadas apenas as que traziam as matérias-primas (nozes, castanha e amendoim, ou similares) e o método de extração (enzimático) de interesse ao nosso estudo, resultando em 9 patentes selecionadas.

Após a pesquisa e a importação dos dados da base de dados do INPI, foram lidos todos os resultados obtidos, conforme a Tabela 7, sendo que apenas 1 patente abordava o tema pertinente ao presente estudo, com o título “Processo enzimático para o preparo de óleo de especiarias”, depositada no ano de 2003 e publicada em 28/11/2006. A patente destaca as especiarias usadas gengibre, cravo e alho, o que difere do foco do presente estudo.

Na sequência, foi feito um levantamento do perfil das patentes selecionadas no Espacenet®. A Figura 3 apresenta a evolução anual das publicações das patentes neste banco de dados. Antes de 2008, não foi identificada a publicação de patentes sobre o tema abordado. Foi possível observar uma publicação constante de 2008 em diante. Em 2008 e 2019, foi observado o maior número de patentes publicadas (2 por ano).

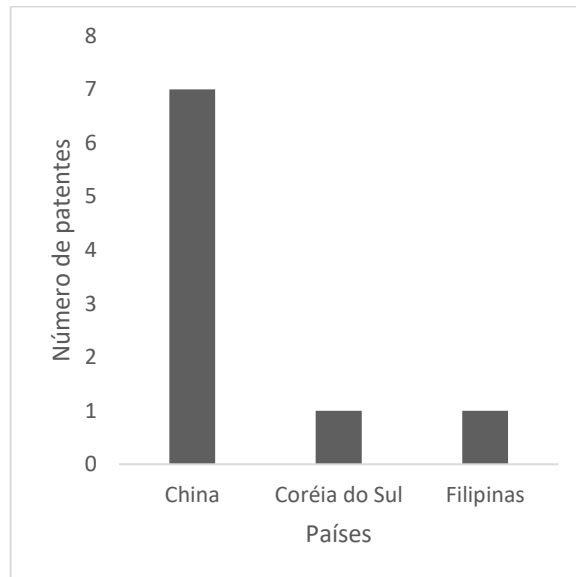
Figura 3 – Número de patentes por ano de publicação referente aos documentos selecionados no Espacenet® sobre extração aquosa assistida por enzimas de óleo de nozes, castanhas e amendoim.



Fonte: Autoria própria (2022).

Na Figura 4, está apresentada a distribuição dos depósitos de patentes por país, sendo a China com o maior número de patentes depositadas (77,77%) sobre o tema estudado. Este país, portanto, é destaque na proteção da produção e da inovação de tecnologias nesta área.

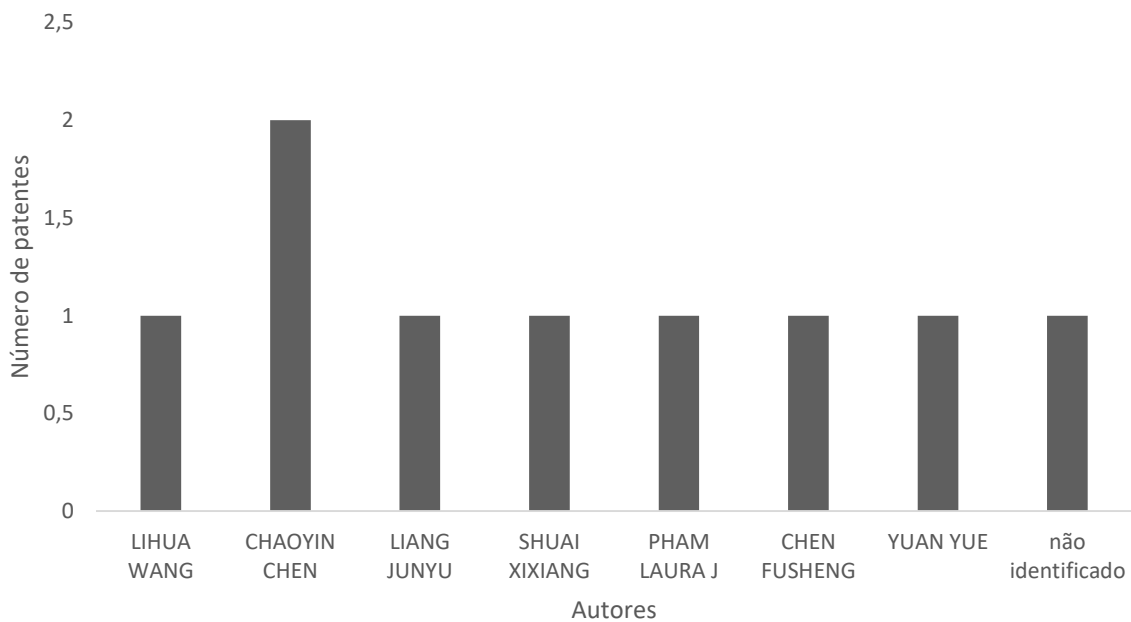
Figura 4 – Distribuição de depósitos de patentes selecionadas no Espacenet® sobre extração aquosa assistida por enzimas de óleo de nozes, castanhas e amendoim, por país.



Fonte: Autoria própria (2022).

De acordo com a Figura 5, foram 8 inventores que se destacaram nos depósitos de patentes sobre o tema extração de óleo via enzimática, sendo o inventor Chaoyin Chen o que teve destaque, com 2 patentes depositadas.

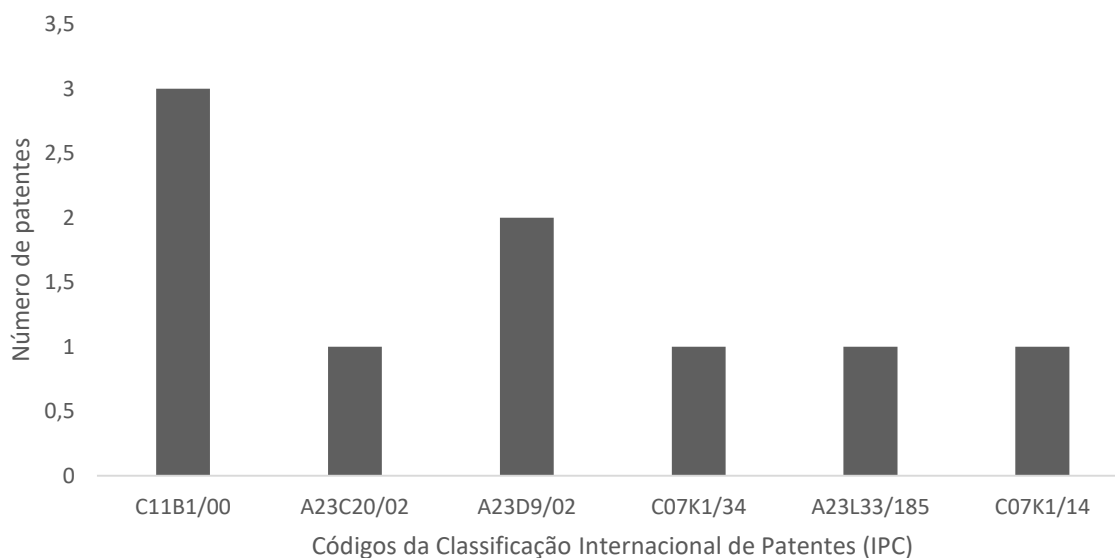
Figura 5 – Inventores das patentes selecionadas no Espacenet® sobre extração aquosa assistida por enzimas de óleo de nozes, castanhas e amendoim.



Fonte: Autoria própria (2022).

Os principais códigos utilizados nos depósitos das patentes selecionadas (Figura 6), referem-se principalmente à produção de óleo, à caracterização da produção ou preparação dos mesmos, aos métodos de extração e à obtenção de frações paralelas, como proteínas.

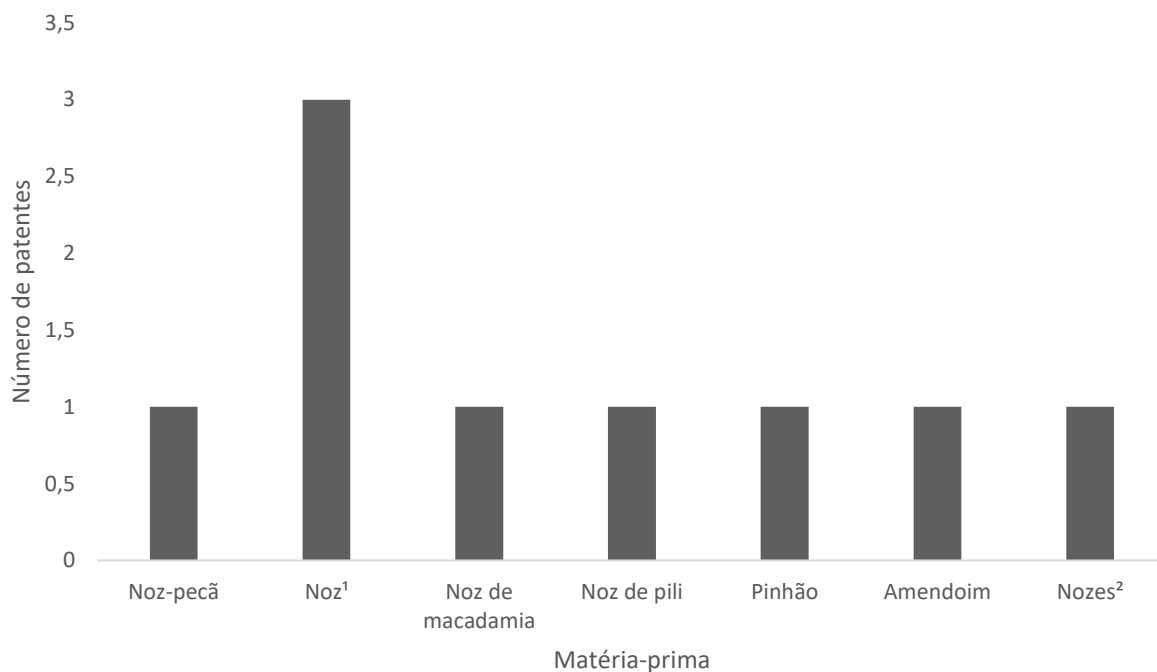
Figura 6 – Frequência de códigos utilizados nas patentes selecionadas no Espacenet® sobre extração aquosa assistida por enzimas de óleo de nozes, castanhas e amendoim.



Fonte: Autoria própria (2022). Legenda: C11B1/00 Produção de gorduras ou óleos graxos a partir de matérias-primas; A23C20/02 não contém componentes lácteos, caseinato ou lactose, como fontes de gorduras, proteínas ou carboidratos; A23D9/02 Caracterizado pela produção ou preparação; C07K1/34 por filtração, ultrafiltração ou osmose reversa; A23L33/185 Proteínas vegetais; C07K1/14 Extração; separação; purificação.

O princípio desta prospecção foi identificar patentes sobre extração enzimática de óleo, referente a castanhas, nozes, amendoim ou matérias-primas similares. Todas as 9 patentes (Tabela 8) selecionadas utilizaram método de extração enzimática de nozes e castanhas, que fazem parte do grupo considerado como *nuts*, além de patentes sobre a extração de óleo de amendoim e pinhão. A noz (*Juglans regia* L.) teve o maior número de patentes depositadas em comparação com as outras espécies (Figura 7). Não foram localizadas patentes sobre a extração aquosa assistida por enzimas de óleo de castanha-do-brasil.

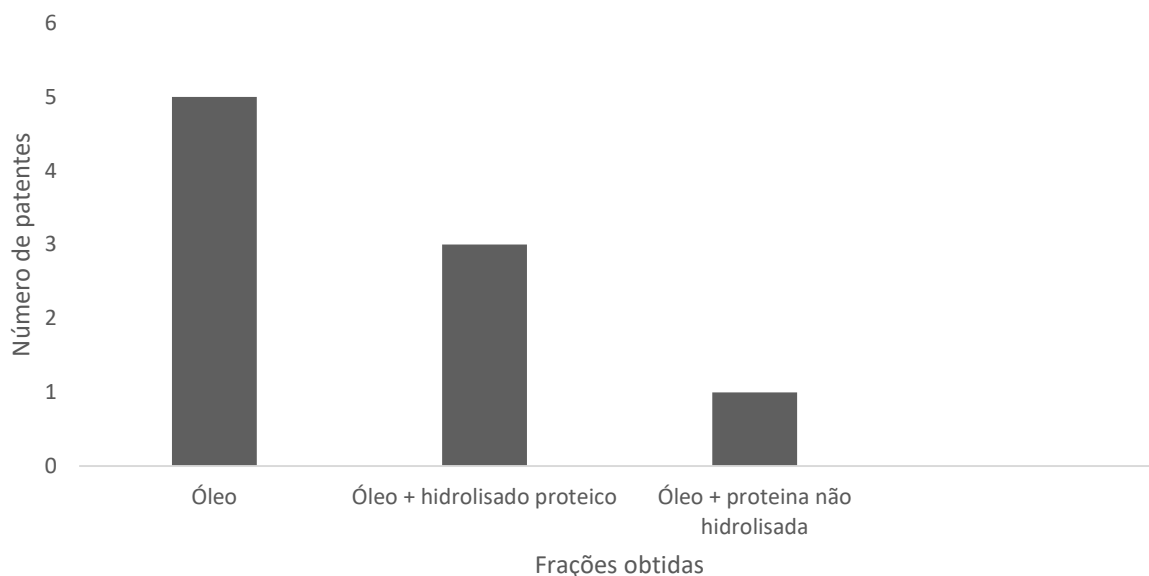
Figura 7 – Matérias-primas utilizadas nas patentes selecionadas no Espacenet® sobre extração aquosa assistida por enzimas de óleo de nozes, castanhas e amendoim.



Fonte: Autoria própria (2022). ¹*Juglans regia* L.; ² Noz não identificada na patente.

Das 9 patentes selecionadas, 5 documentos relatavam exclusivamente a extração de óleo, 3 patentes descreviam a extração simultânea de óleo e de frações de hidrolisados proteicos, e 1 patente indicava a extração simultânea de óleo e proteína não hidrolisada (Figura 8).

Figura 8 – Produtos obtidos nas patentes selecionadas no Espacenet® sobre extração aquosa assistida por enzimas de óleo de nozes, castanhas e amendoim.



Fonte: Autorial própria (2022).

Na Tabela 8, estão apresentadas as informações sobre as patentes selecionadas relevantes para a avaliação dos processos utilizados, focando nas matérias-primas de interesse que foram utilizadas, a saber: noz pecã, noz, pinhão, noz macadâmia, noz de pili, amendoim e nozes em geral.

Tabela 8 – Patentes sobre extração aquosa assistida por enzimas de óleo de nozes, castanhas e amendoim, selecionadas a partir de uma busca na base de dados *Espacenet*[®] e de acordo com a matéria-prima e os métodos de extração aplicados.

Nº patente	País	Ano	Título	IPC	Nome científico	Enzimas utilizadas	Aplicação	Referência
CN100427576C	China	2008	Extraction of hickory nut oil from water enzyme	C11B1/00	Noz da Manchúria (<i>Juglans mandshurica</i> Maxim)	Celulase; papaína	Extração de óleo	LIHUA WANG [CN]; BOZHEN YANG [CN]; GUIYUN HAN [CN]; HONG XIE [CN]
CN101280327A	China	2008	Synchronous aqueous enzymatic ultrasonic extraction for walnut oil and walnut protein peptide	A23C20/02; A23J3/14; A23L33/18; A23L33/22; C12P21/06; C12P7/64;	Noz (<i>Juglans regia</i> L.)	Protease	Extração de óleo, proteína, por hidrólise enzimática e tratamento ultrassônico	CHAOYIN CHEN [CN]; SHENGLAN ZHAO [CN]; FENG GE [CN]; BENYONG HAN [CN]; XIANGFENG XIONG [C]
CN101962596A	China	2011	Method for synchronously preparing walnut oil and walnut peptide	A23D9/02; A23L2/38; A23L33/18; A23L33/185; A61K47/44; A61K8/64; A61K8/92; C11B1/00; C11B1/04; C12P21/06;	Noz (<i>Juglans regia</i> L.)	Protease	Extração do óleo de noz e peptídeos de proteína de noz	CHAOYIN CHEN; SHENGLAN ZHAO; FENG GE; BENYONG HAN; DIQIU LIU; XIANGFENG XIONG
CN103289809A	China	2013	Method for preparing walnut seed kernel oil by adopting brine enzymatic method	C11B1/00; C11B1/04;	Noz (<i>Juglans</i> sp.)	α-amilase, celulase	Preparação de óleo	LIANG JUNYU; YIN ZHENXIONG; FANG YI; ZHANG MINMIN; ZHAO BAOTANG; KONG WEIBAO; ZHANG JI; GU SHANSHAN; LIU YIYAO; GAO FENG
KR101492472B1	Coréia	2015	Method for production of pine-nut oil with enzyme and cold process and composition with pine-nut oil therefrom	A23D9/02 ; A23L1/30 ; C12P7/64 ;	Noz de pinhão (<i>Pinus koraiensis</i> Siebold et Zucc)	Viscozyme e Pectinex	Extração de óleo	-
CN108796015A	China	2018	Method for synchronously extracting protein peptide and vegetable grease from macadamia nut	C07K1/34 ; C11B1/02 ; C11B1/04 ; C11B3/16 ; C12P21/06 ;	Noz de macadâmia (<i>Macadâmia ternifolia</i> F. Muell)	Protease composta	Extração síncrona de peptídeos proteicos e óleos vegetais	SHUAI XIXIANG; DU LIQING; MA FEIYUE; ZHANG MING; TU XINGHAO
PH12017000247A1	Filipinas	2019	A BIOPROCESS SYSTEM FOR THE PRODUCTION OF PILI (<i>Canarium ovatum</i> ENGL.) PULP OIL	C11B1/00 ; C11B3/00 ; C11B3/04 ; C11B3/06 ; C11B3/14	Noz de pili (<i>Canarium ovatum</i> Engl)	-	Extração de óleo	PHAM LAURA J [PH]; PHAM CHAY B [PH]
CN110331031A	China	2019	Method capable of realizing simultaneous separation of peanut oil and non-hydrolytic proteins	A23L33/185; C11B1/02 ; C11B1/04; C11B3/00; C11B3/16;	Amendoim (<i>Arachis hypogaea</i> L.)	Celulase, pectinase, hemicelulase e glucanase	Separação simultânea de óleo de amendoim e proteína não hidrolisada	CHEN FUSHENG; LI YUJIAN; NIU RUIHAO; ZHAO ZITONG; JIANG LIANZHOU; MA CHUANGUO; DING CHANGHE; LIU CHEN
CN113278463A	China	2021	Method for preparing walnut oil by-product oil-in-water emulsion by aqueous enzymatic method	C07K1/14; C11B1/00; C11B1/04;	Nozes	-	Fornecer um método para preparar emulsão óleo em água de subproduto	YUAN YUE; MA LINZHI; CAO XINRU; ZHONG YUEHUI; WANG MENGMEI; TIAN TIAN

Fonte: Autoria própria (2022).

Apesar da publicação das patentes no Espacenet® (Tabela 8), nem todas foram concedidas até o momento, sendo que a maioria se encontra em avaliação. Apenas a patente CN100427576C já foi concedida.

Na patente CN100427576C, não ficou claro qual foi a oleaginosa utilizada na extração enzimática, pois os inventores mencionam duas nozes diferentes como substrato e apresentam o nome científico somente de uma delas. Aparentemente se trata da noz da Manchúria (*Juglans mandshurca* Maxim). A patente PH12017000247A1 não apresentava informações de forma detalhada.

No que diz respeito às demais patentes, o objetivo do documento CN100427576C foi propor um método para a extração de óleo de noz da Manchúria, através de um sistema aquoso enzimático, resultando em alto rendimento e qualidade de óleo e também de proteína. O processo foi feito através da moagem da noz, adicionando esta oleaginosa em solução tampão a pH 4,0-5,6 em banho-maria a 50-60 °C por 8-15 minutos. Após, foi adicionada solução tampão contendo celulase, com incubação em banho-maria à temperatura de 45-60 °C por 3-10 horas. Após centrifugação (4000-6000 rpm/15-30 minutos), obteve-se o óleo. Esta invenção também apresentou uma alternativa para uma segunda extração de óleo a partir do subproduto (torta) obtido na etapa anterior, utilizando papaína, elevando o rendimento dos lipídios recuperados e a qualidade das proteínas extraídas na forma hidrolisada. Os principais ácidos graxos presentes no óleo foram os ácidos palmítico (2,41%), oleico (18,63%), esteárico (0,62%), linolênico (9,74%) e linoleico (67,6%). Segundo os autores, esta invenção apresentou como vantagens um alto rendimento de óleo de boa qualidade, com cor clara e fácil refino, e de proteína hidrolisada com baixa desnaturação e boa disponibilidade, conduzido sob condições brandas de tratamento. O óleo e a torta (coproduto) são fáceis de separar por centrifugação. Segundo os autores, através do processo completo de produção verde, simples e seguro, pode-se obter nutrientes de alta qualidade e óleos benéficos para a saúde (WANG et al., 2008).

O objetivo da patente CN101280327A, por sua vez, foi propor um método para extrair óleo e proteína de noz através de métodos como refino, hidrólise enzimática e tratamento ultrassônico, sem o uso de solventes. Foi utilizada a polpa da noz moída, sendo então adicionado água e, em seguida, uma protease isolada (por exemplo, papaína, bromelina, pepsina, tripsina ou protease de *Bacillus*) ou um complexo de

enzimas (mistura de proteases ou celulase de *Trichoderma*, α -amilase, β -amilase e tanase), a uma temperatura de 25 a 60 °C. O meio foi tratado com ultrassom e depois agitado. Após a extração, foi realizada a centrifugação para a separação da fração oleosa, da fração de peptídeos e de um resíduo rico em fibras. Segundo os autores, a fração de peptídeos pode ser usada diretamente para produzir bebida (“leite”) vegetal de alto valor nutricional, ou pode ser submetida a nanofiltração para a preparação de peptídeos antioxidantes, ou tratada a vácuo a baixa temperatura para produzir um “leite” condensado, ou processada em *spray dryer* para obter pó nutricionalmente rico em proteína de noz. Os inventores também descreveram a liberação de açúcares neste processo. O método desenvolvido, de acordo com os autores, possui vantagens em comparação com os métodos convencionais, por possuir equipamento simples e seguro de operar. O método pode melhorar a eficácia na extração do óleo, o qual pode ser obtido com alta qualidade e fácil refino. As condições do tratamento enzimático são brandas e a extração por ultrassom tem redução no tempo de reação. A obtenção das 3 fases, oleosa, aquosa e resíduo, após a centrifugação, melhora a eficácia do processo (CHEN *et al.*, 2008).

Já o objetivo da patente CN101962596A foi desenvolver um método de extração proteolítica de noz assistida por micro-ondas, para a obtenção de óleo e de frações paralelas de peptídeos, sem o uso de solventes. Foi utilizada a noz moída, em seguida foi adicionada uma enzima protease (exemplo: papaína, bromelina, pepsina, tripsina) ou um complexo de proteases e água. Em seguida, foi feito o tratamento com micro-ondas por tempo de 1 a 10 minutos sob agitação de 60 a 300 rpm e temperatura controlada de 35 a 65 °C. Após o término da reação, o meio foi centrifugado para a separação da fase oleosa, da fração aquosa de peptídeos e resíduo (este resíduo pode ser seco e triturado para ser usado como alimento de fibra dietética). A centrifugação permite a separação do óleo, que pode ser refinado fisicamente a uma baixa temperatura, resultando em óleo comestível de alta qualidade, e que pode ser usado como matéria-prima para produtos farmacêuticos e cosméticos. A fração aquosa de peptídeos pode ser usada diretamente para produzir bebidas contendo peptídeos de noz. Os autores descrevem que o método tem vantagens, como equipamento simples e seguro de manusear, óleo obtido de alta qualidade e de fácil refino. As condições de tratamento enzimático são suaves frente aos métodos de prensagem a quente e a outros métodos que requerem altas temperaturas. Através

da extração assistida por micro-ondas, o tempo de processamento é bastante reduzido, podendo ser reduzido de 2-8 horas sem assistência de micro-ondas para 3-30 minutos com intervenção do método. No processo, a separação das frações obtidas é fácil. Como a extração assistida por micro-ondas pode reduzir a emulsificação, é fácil usar um separador centrífugo trifásico tipo disco para separar a fração oleosa, a fração aquosa e o resíduo, o que pode melhorar muito a eficácia do processo (CHEN *et al.*, 2011).

No caso da patente CN103289809A, o objetivo foi propor um método aquoso enzimático para a extração de óleo de noz. As nozes foram secas em temperatura de 40-60 °C, e após foram moídas e adicionadas de cloreto de sódio (8-12%), α -amilase (0,6%), celulase (8-12%) e água. Esse meio reacional foi misturado uniformemente à temperatura de 50-60 °C por 2-4 h. Após essa mistura, o meio foi centrifugado à temperatura de 15-25 °C a uma velocidade de rotação de 6000-8000 rpm por 15-30 minutos, obtendo o produto desejado (óleo). Segundo os autores, o rendimento de extração foi entre 79 e 82%. O óleo foi analisado através de GC-MS, indicando um teor de ácidos graxos insaturados superior a 98%. O óleo é de alta qualidade e tem alto valor nutricional, podendo ser comestível e apresentando funções médicas e de saúde. A patente propõe um complexo de enzimas e cloreto de sódio para realizar a enzimólise, com uma dosagem pequena de enzima, custo baixo de extração e rendimento alto de extração de óleo. O processo de preparação do óleo de semente de noz na invenção é simples, tem baixo consumo de energia, é ambientalmente amigável e limpo, e pode ser produzido industrialmente (JUNYU *et al.*, 2013).

O objetivo da patente KR101492472B1 foi fornecer um método para extração de óleo de noz de pinhão, sem o uso de solventes químicos. Primeiramente, a matéria-prima foi triturada a uma temperatura de 30-45 °C e após foi feito o tratamento enzimático, com Viscozyme® (celulase, beta-glucanase, hemicelulase, xilanase) (0,05 a 0,15%) e Pectinex® (pectinase e hemicelulase) (0,05 a 0,15%) por 10-20 horas a 35-45 °C. A digestão enzimática dos pinhões triturados por meio do tratamento das enzimas de degradação de polissacarídeos Viscozyme e Pectinex pode aumentar ainda mais os componentes funcionais dos pinhões. Após o tratamento enzimático, os pinhões sofrem duas novas moagens úmidas a temperaturas ideais (35 a 45 °C).

Após a moagem, é feita etapa de centrifugação (300 rpm), separação das fases, obtendo uma fração líquida sobrenadante (não referenciado).

Em relação à patente CN108796015A, o objetivo foi fornecer um método para a obtenção de peptídeos e óleo de noz de macadâmia. As nozes são moídas e adicionadas de água, é feito o ajuste do pH do meio, seguido da adição de um complexo de proteases (3,5-5%). É usado um homogeneizador de alta pressão para conduzir a hidrólise enzimática por 60-90 min sob pressão de 30-50 MPa. Após, a mistura é submetida a um tratamento a uma baixa temperatura (4-5 °C) por 30-50 min para depois obter a separação trifásica por meio de centrifugação, a uma rotação de 12000 rpm. Obtém, assim, o óleo, o hidrolisado proteico e um precipitado. O hidrolisado proteico passa por um novo tratamento enzimático a 80-90 °C, neutralizando o pH para neutro, por meio de ultrafiltração e, em seguida, o meio é liofilizado. Os autores relatam que o óleo pode ser usado diretamente como base de cosméticos e os peptídeos podem ser usados para produtos de saúde, cuidados com a pele ou aditivos alimentares. O resíduo sólido contém uma grande quantidade de nutrientes como celulose, colóide e muitas vezes é usado para fabricação de ração animal. Em resumo, o método para extrair simultaneamente óleo de noz de macadâmia e peptídeos tem as seguintes vantagens em comparação com o processo convencional: simplificação do processo, fácil operação e controle. Ocorre a extração simultânea de óleo vegetal e peptídeos, melhor utilização das nozes e redução dos custos de processamento. O óleo vegetal tem alto rendimento, alta qualidade e é fácil de refinar. Os peptídeos têm baixo peso molecular e alta capacidade antioxidante. Os produtos são fáceis de separar, usando uma centrífuga de borboleta para uma separação trifásica, melhorando muito a eficácia do processo (SHUAI *et al.*, 2018).

O objetivo da patente PH12017000247A1 foi o uso da polpa de noz de pili, subproduto da indústria de processamento de pili, que representa 50-60% do total da matéria-prima e é totalmente descartada como resíduo. No entanto, contém quantidades apreciáveis de óleo, podendo ser aproveitada para a obtenção de produtos de alto valor agregado. A extração enzimática em escala piloto de óleo de polpa de pili, usando a enzima selecionada, apresentou rendimento de 76%, quando em comparação à extração com solvente. A invenção, portanto, propôs um sistema

de bioprocesso para a produção de óleo de polpa de pili. Outras informações não estavam disponíveis no documento desta patente (PHAM *et al.*, 2019).

O objetivo da patente CN110331031A, por sua vez, foi propor um método para a separação simultânea de óleo e proteína não hidrolisada de amendoim, através do uso de enzimas de degradação da parede celular, com base no método de extração aquosa enzimática. Foram usados amendoins descascados e assados em temperatura de 75 a 110 °C por 20 min. Em seguida, os amendoins foram misturados com água na proporção ideal, e então adicionada de 50 a 100 U/g de enzima. A solução obtida por hidrólise enzimática foi inativada e depois centrifugada para obter uma fração contendo óleo de amendoim e uma fração aquosa contendo proteína não hidrolisada. A fração oleosa foi submetida a desemulsificação para a obtenção de óleo, e a fração aquosa foi submetida a lavagem e secagem para a obtenção de uma proteína não hidrolisada. Opcionalmente, a temperatura de aquecimento pode ser de 90 °C. Como exemplos de enzimas de degradação da parede celular, temos celulase, pectinase, hemicelulase e glucanase. Os autores relatam que o método para separar simultaneamente óleo de amendoim e proteína não hidrolisada tem vantagens, por ser um método não tóxico, fácil de operar e por obter óleo e proteína com valor nutricional atrativo, o que é benéfico para aplicação em alimentos. A protease não é utilizada no processo de extração, e a proteína extraída é uma proteína não hidrolisada, que possui uma ampla gama de aplicações. O óleo de amendoim extraído é rico em ácidos graxos insaturados. O extrato de proteína tem maior propriedade emulsificante e propriedade de formação de espuma do que o extrato de proteína comercialmente disponível, além de alto valor comercial (CHEN *et al.*, 2019).

O objetivo da patente CN113278463A foi estabelecer um método de produção para o preparo de um sistema aquoso para a obtenção de óleo. As nozes foram moídas e misturadas com água, seguido do ajuste do pH, e, após, foi adicionada a enzima (1%). A solução foi incubada em banho-maria à temperatura de 100 °C por 10 minutos para inativar a enzima. Após, a solução foi centrifugada por 30 minutos em velocidade de rotação de 5000 rpm. Depois da centrifugação, a solução foi filtrada. A fração superior obtida era de óleo livre, e a fração inferior era de hidrolisado. O hidrolisado é retirado da extremidade inferior do funil de separação (YUAN *et al.*, 2021).

Nas patentes em que foi possível fazer a identificação das enzimas, observou-se que foram utilizadas diferentes hidrolases, a saber, proteases e carboidrases, tanto na forma isolada, como combinadas ou de forma sequencial. O uso de diferentes hidrolases pode permitir a modificação de componentes variados das células dos tecidos modificados, liberando óleo com maior facilidade, podendo aumentar o rendimento do processo. Pode, ainda, obter, além da fração oleosa, frações paralelas, como hidrolisados de proteínas. A extração de óleo com o uso de enzimas já foi relatada na literatura, em um processo em que se obteve, em paralelo, hidrolisados proteicos e liberação de compostos fenólicos com alta capacidade antioxidante (POLMANN *et al.*, 2019, 2021).

Sabe-se que as metodologias utilizadas para a obtenção de hidrolisados proteicos são as hidrólises alcalina, enzimática e ácida, ou até mesmo a combinação de dois ou mais destes métodos (OLIVEIRA *et al.*, 2015). De acordo com Oliveira *et al.* (2015), o método enzimático é um dos utilizados para obter-se hidrolisado proteico. Envolve a hidrólise das longas cadeias de moléculas proteicas, devido à ação de enzimas de origem vegetal ou microbiana. O processo envolve a ação das proteases, catalisando a clivagem hidrolítica de ligações peptídicas, o que produz uma estrutura menor de peptídeos, chamados de hidrolisados. As proteases, por reconhecerem os locais de clivagem, agem diretamente na estrutura da molécula, apresentando diferentes especificidades em relação à cadeia proteica (BEAUBIER *et al.*, 2018; KAMNERDPETCH *et al.*, 2007). Em estudo de Polmann *et al.* (2021), obteve-se um grau de hidrólise proteica de 3,94 % ($\pm 0,12$) em um estudo da fração aquosa de noz pecã, utilizando Alcalase®.

A hidrólise enzimática de proteínas já é usada há muito tempo na indústria de alimentos pela ampla gama de aplicações dos produtos obtidos, por exemplo, no enriquecimento de formulações, e como suplementos para uso humano e também animal (CLEMENTE, 2000).

Devido à ação proteica, os hidrolisados enzimáticos podem apresentar atividade antioxidante, pois há a liberação de peptídeos que podem apresentar esta capacidade, considerados, neste caso, biologicamente ativos. Este fato já foi comprovado com diferentes matérias-primas vegetais, como linhaça, moringa e cevada, que apresentaram aumento na capacidade antioxidante após a hidrólise enzimática (ADERINOLA *et al.*, 2018; HAJJI *et al.*, 2018).

No que diz respeito às carbohidrases, uma das reações catalisadas por estas enzimas é a hidrólise de carboidratos. São específicas ao tipo de monossacarídeo envolvido na ligação, também à posição do resíduo, à configuração (α e β) e à massa molecular do substrato (KOBELITZ, 2008). Na grande maioria, o emprego dessas enzimas neste processo é ligado à hidrólise de ligações glicosídicas, caso das enzimas da subclasse 3.2 (celulase, hemicelulase ou ainda a poligalacturonase) e da subclasse 4.2 (pectinoliase) da *Enzyme Commission* da IUBMB. A ação destes catalisadores aumenta a permeabilidade e rompe a parede celular, que é rica em lignocelulose, promovendo a liberação de óleo para o meio aquoso (FERREIRA, 2016).

Uma das carbohidrases utilizada na literatura para catalisar a hidrólise de sementes oleaginosas é a Celluclast® comercializada pela Novozymes, que é produzida pela fermentação submersa de cepas do fungo *Trichoderma reesei*. Ela atua como catalisador da degradação de celulose em glicose, celobiose e polímeros com alto teor de glicose (WIKIERA *et al.*, 2015).

Algumas invenções das patentes selecionadas ressaltaram a obtenção de óleo com perfil de ácidos graxos de interesse nutricional, que permitem a obtenção de óleo com alegações de propriedades funcionais, o que é de interesse para comunidade científica e para indústria (WANG *et al.*, 2008).

A maioria das patentes selecionadas utilizou as sementes como substratos para as reações enzimáticas. Uma delas, no entanto, propôs um processo realizado em duas etapas, sendo que a primeira foi a hidrólise da oleaginosa utilizando celulase, processo que resultou na liberação de óleo e de uma torta como coproduto. A segunda etapa envolveu a hidrólise da torta utilizando papaína, processo que pode aumentar a recuperação de óleo e liberar hidrolisados proteicos (WANG *et al.*, 2008). O uso do processo enzimático é versátil, pois podemos combinar tanto os métodos de extração, como o uso de enzimas, obtendo maior rendimento de óleo e obtendo coprodutos de qualidade, como a torta, afim de valorizar o interesse e potencial destes produtos obtidos. O processamento sustentável das matérias-primas ou dos resíduos de seu processamento, resultando em produtos de qualidade e coprodutos com aproveitamento, condiz com o conceito de biorrefinaria.

Em certas patentes selecionadas neste estudo, observa-se que foram utilizadas tecnologias assistivas em algumas invenções. Como no caso do método de ultrassom

na patente CN101280327A e micro-ondas na patente CN101962596A. Uma prospecção científica recente relatou o uso de ultrassom, tendo indicado que os estudos existentes mostram um aumento do rendimento do óleo extraído de diferentes matrizes. Esta tecnologia pode ser utilizada como pré-tratamento ou combinada com o uso de enzimas no meio (NOGUEIRA *et al.*, 2022).

Um estudo da literatura reporta que o uso de micro-ondas associado a diferentes enzimas usadas de forma isolada aumentou o rendimento de óleo obtido de noz macadâmia. Este estudo resultou em um rendimento médio de 58,09% de óleo nas condições otimizadas do processo (temperatura de 50°C, 64 min de reação, concentração de enzima de 1,60% em massa e potência de 450W) (MA *et al.*, 2022). O óleo obtido apresentou majoritariamente ácidos graxos monoinsaturados e capacidade antioxidante superior ao óleo obtido por extração com solvente (n-hexano).

O levantamento realizado com base nas patentes selecionadas no Espacenet®, revela que é possível demonstrar que a extração de óleo de nozes, castanhas e amendoim através de extração enzimática, é um método promissor para que haja futuros estudos e patentes, pois apresentam grandes potencialidades para aplicação, principalmente por ser um processo sustentável, com aproveitamento integral da matéria-prima ou redução de resíduos.

As patentes levantadas mostram que é possível desenvolver tecnologias que vão ao encontro dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) da Organização das Nações Unidas (ONU), especialmente os ODS 3 e 12. O ODS 3 pretende assegurar uma vida saudável e promover o bem-estar para todas as pessoas de todas as idades, enquanto o ODS 12 pretende assegurar padrões de produção e de consumo sustentáveis (ONU-BRASIL.UN.ORG.BR).

CONCLUSÃO

A realização deste estudo permitiu identificar que existe potencial tecnológico para a extração aquosa assistida por enzimas, visando a obtenção de óleo de alta qualidade obtido de nozes, castanhas e amendoim, com base nas informações retiradas das patentes das bases de dados INPI e ESPACENET. As patentes sobre este assunto são relativamente recentes e percebe-se a necessidade do desenvolvimento de pesquisas que tragam maior aprimoramento nesta área de interesse.

Através da prospecção, foi possível confirmar que existem patentes com matérias-primas como nozes, castanhas e amendoim, que já utilizam a extração aquosa assistida por enzimas como um processo alternativo para a extração de óleo e de produtos paralelos de alto valor agregado. Esta é uma tecnologia recente, que pode ser mais estudada para a obtenção simultânea de óleo funcional, de alta qualidade e rendimento, contendo substâncias que podem apresentar atividade biológica, a partir destas matérias-primas oleaginosas. Possivelmente, a aplicação da extração assistida por enzimas de óleo residual presente na torta de prensagem destas matrizes também é um caminho para uma extração eficaz e totalmente amigável ao meio ambiente.

REFERÊNCIAS

- ABDOLSHAHI, A; MAJD, M. H; RAD, J. S; TAHERI, M; SHABANI, A; DA SILVA, J. A. T. Choice of solvent extraction technique affects fatty acid composition of pistachio (*Pistacia vera* L.) oil. **Journal Food Sci Technol**. 2015.
- ADERINOLA, T. A; FAGBEMI, T. N; ENUJIUGHA, V. N; ALASHI, A. M; ALUKO, R. E. Amino acid composition and antioxidant properties of *Moringa oleifera* seed protein isolate and enzymatic hydrolysates. **Heliyon**, v. 4, p. e00877, 2018.
- ALASALVAR, C; PELVAN, E. Fat-soluble bioactives in nuts. **European Journal of Lipid Science and Technology**. v.113, n8. p 943-949, 2011.
- AYDOS, L. R; DO AMARAL, L. A; DE SOUZA, G. H. O; CAVALHEIRO, L. F; VARGAS, M. O. F; RAFACHO, B. P. M; NAZÁRIO, C. E. D; OLIVEIRA, R. J; MACEDO, M. L. R; DOS SANTOS, E. F. Tucum-do-pantanal (*Bactris setosa* Mart.): physicochemical characterization of almonds, press cake and crude oil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 62, 2019.
- BADJÉ, D. S; SORO, D; YEO, M. A; KOFFI, E. K. Physico-chemical, functional and sensory properties of composite bread prepared from wheat and defatted cashew (*Anacardium occidentale* L.) Kernel Flour. **International Journal of Environmental & Agriculture Research**, v. 4, n. 4, p. 88-98, 2018.
- BEAUBIER, S; FRAMBOISIER, X; IOANNOU, I; GALET, O; KAPEL, R. Simultaneous quantification of the degree of hydrolysis, protein conversion rate and mean molar weight of peptides released in the course of enzymatic proteolysis. **Journal of Chromatography B**, v. 1105, p. 1-9, 2018.

CARVALHO, C. O. DE. **COMPARAÇÃO ENTRE MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DO ÓLEO DE *Mauritia flexuosa* L.f. (ARECACEAE - buriti) PARA O USO SUSTENTÁVEL NA RESERVA DE DESENVOLVIMENTO TUPÉ: RENDIMENTO E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.** 2011. (Dissertação). Biotecnologia e Recursos Naturais, Escola Superior de Ciência da Saúde, Universidade do Estado do Amazonas, Manaus/AM.

CATALAN, L; ORTI-ALVAREZ, M; GIMENEZ, A. P; GOMEZ, R; RABADAN, R; PARDO, J. E. Pistachio oil: A review on its chemical composition, extraction systems, and uses. **Eur. J. Lipid Sci. Technol.** 2017.

ÇAKALOĞLU, B; ÖZYURT, V. H; ÖTLEŞ, S. Cold press in oil extraction. A review. **Food Technology.** V, 7. 2018.

CHAOYIN, C; SHENGLAN, Z; FENG, G; BENYONG, H; XIANGFENG, X; CHEN, C; ZHAO, S; GE, F; HAN, B; XIONG, X. **Synchronous aqueous enzymatic ultrasonic extraction for walnut oil and walnut protein peptide.** KUNMING UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY. 2008.

CHAOYIN, C; SHENGLAN, Z; FENG, G; BENYONG, H; DIQIU, L; XIANGFENG, X; CHEN, C; ZHAO, S; GE, F; HAN, B; LIU, D; XIONG, X. **Method for synchronously preparing walnut oil and walnut peptide.** KUNMING UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY. 2011.

CHEN, F; ZHANG, Q; GUB, H; YANG, L. An approach for extraction of kernel oil from *Pinus pumila* using homogenate-circulating ultrasound in combination with an aqueous enzymatic process and evaluation of its antioxidant activity. **Journal of Chromatography A;** v. 1471, p. 68–79, 2016.

CHEN, F; LI, Y; NIU, R; ZHAO, Z; JIANG, L; MA, C; DING, C; LIU, C. **Method capable of realizing simultaneous separation of peanut oil and non-hydrolytic proteins.** HENAN UNIVERSITY OF TECHNOLOGY. 2019.

CLEMENTE, A. Enzymatic protein hydrolysates in human nutrition. **Trends in Food Science & Technology**, v. 11, p. 254 – 262, 2000.

CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. **Boletim da Sociobiodiversidade**, v.1, nº 1, p.1-69, 1º Trimestre de 2017. Brasília/DF.

COSTA, T; JORGE, N. Beneficial Bioactive Compounds Present in Nuts and Walnuts. **UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde**. P, 195-203. 2011.

DANIELSKI, R; POLMANN, G; BLOCK, J. M. **Valorization of Native Nuts from Brazil and Their Coproducts**. DOI: <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.95056>. 2020.

DEMOLINER, F; POLICARPI, P. B; RAMOS, J. C; BASCUÑAN, V. L. A. F; FERRARI, R. A; JACHMANIÁN, I; CASAS, A. F; VASCONCELOS, L. F. L; BLOCK, J. M. Sapucaia nut (*Lecythispisonis* Cambess) and its by-products: A promising and under utilized source of bioactive compounds. Part I: Nutritional composition and lipid profile. **Food Research International**, v. 108, p. 27 – 34, 2018.

DONG, X; ZHAO, M; SHI, J; YANG, B; LI, J; LUO, D; JIANG, G; JIANG, Y. Effects of combined high-pressure homogenization and enzymatic treatment on extraction yield, hydrolysis and function properties of peanut proteins. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**. v, 12, p, 478-483, 2011.

DOS SANTOS, O. V; CORRÊA, N. C. F; DA SILVA, S, C, L. Caracterização física, físico-química, microbiológica em icotoxicológica da castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa* HB K). **Revista Iluminart**, v. 1, n. 7, 2011.

DUNFORD, N. T; DUNFORD, H. B; **Nutritionally enhanced edible oil and oilseed processing**. Includes bibliographical references and index. 1. Oils and fats, Edible. I. Dunford, NurhanTurgut, 1953- II. Dunford, H. Brian.

European Patent Office – Espacenet (2022). Patent search. <https://worldwide.espacenet.com/patent/> Accessed March 2022.

FERREIRA, E. DE S. **ESTUDO DA COMBINAÇÃO DE PREPARAÇÕES ENZIMÁTICAS NO RENDIMENTO DE EXTRAÇÃO AQUOSA DO ÓLEO DE POLPA DE *Euterpe oleracea Martius***. 2016. (Dissertação). Pós-Graduação em Biotecnologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará, Belém/PA.

FERREIRA, E. de S; SILVEIRA, C. DA S; LUCIEN, V.G; AMARAL, A. S. Caracterização físico-química da amêndoa, torta e composição dos ácidos graxos majoritários do óleo bruto da castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa* HBK). **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 17, n. 2, p. 203-208, 2009.

FERREIRA, J. B; ELISABETE, M. C. A; SARAIVA, J. A; PINTADO, M. Green emerging extraction technologies to obtain high-quality vegetable oils from nuts: A review. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**. v, 2022.

FIREMAN, F. A. T; FIREMAN, A. K. B. A. T. Enzimas na alimentação de suínos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 28, n. 1, p. 173-178, 1998.

FIRESTONE, D. **Physical and Chemical characteristics of Oil, Fats and Waxes**. Washington, D. C.: AOCS Press, 1999.

FONSECA, F. A. DA. **EXTRAÇÃO DE ÓLEO RESIDUAL DAS TORTAS DE POLPA E AMÊNDOA DA MACAÚBA (*Acrocomia aculeata*) UTILIZANDO COMO SOLVENTE O ETANOL E ISOPROPANOL**. 2016. (Dissertação). Pós-Graduação em Engenharia Química, Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte/MG.

FREITAS, S. C. DE; GONÇALVES, E. B; ANTONIASSI, R; FELBERG, I; OLIVEIRA, S. P. DE. Meta-analysis of selenium content in Brazil nuts. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 1, p.54-62, 2008.

FREITAS, S. P; HARTMAN, L; COURI, S. Alternativa biotecnológica ao uso de solventes orgânicos na extração de óleos vegetais. **Óleos e Grãos**, p. 29-32, set/out 1996.

GAO, Y; LIU, C; YAO, F; CHEN, F. Aqueous enzymatic extraction of peanut oil body and protein and evaluation of its physicochemical and functional properties. **International Journal of Food Engineering**. 2021.

GLÓRIA, M. M; REGITANO-D'ARCE, M. A. B. Concentrado e isolado protéico de torta de castanha-do-Pará: Obtenção e caracterização química e funcional. **Ciências Tecnologia dos Alimentos**, Campinas, v.20, n. 2, p.240–245, maio/ago. 2000.

GOMES, S; TORRES, A. G. Optimized extraction of polyphenolic antioxidant compounds from Brazil nut (*Bertholletia excelsa*) cake and evaluation of the polyphenol profile by HPLC. **Science of Food and Agriculture**, v. 96, p. 2805-2814, 2015.

GONG, Y; PEGG, R. B. Tree nut oils: Properties and processing for use in food. **Specialty Oils and Fats in Food and Nutrition**. 2015.

HAJJI, T; MANSOURI, S; VECINO-BELLO, X; CRUZ-FREIRE, J. M; REZGUI, S; FERCHICHI, A. Identification and characterization of phenolic compounds extracted from barley husks by LC-MS and antioxidant activity in vitro. **Journal of Cereal Science**, v. 81, p. 83-90, 2018.

HU, H; FAN, T; ZHAO, X; ZHANG, X; SUN, Y; LIU, H. Influence of pH and salt concentration on functional properties of walnut protein from different extraction methods. **Journal Food Sci Technol**. 2017.

Instituto Nacional de Propriedade Intelectual – INPI (2022). Patentes. Retrieved from <https://www.gov.br/inpi/pt-br/servicos/patentes>. Accessed March 2022.

JIANG, L; HUA, D; WANG, Z; XU, S. Aqueous enzymatic extraction of peanut oil and protein hydrolysates. **Food and Bioproducts Processing**, v. 88, p. 233–238, 2010.

KAMNERDPETCH, C; WEISS, M; KASPER, C; SCHEPER, T. An improvement of potato pulp protein hydrolyzation process by the combination of protease enzyme systems. **Enzyme and Microbial Tecnology**, v. 40, p. 508 – 514, 2007.

KLUCZKOVSKI, A. M; MARTINS, M; MUNDIM, S. M; SIMÕES, R. H; NASCIMENTO, K. S; MARINHO, H. A; JUNIOR, A. K. Properties of Brazil nuts: A review. **African Journal of Biotechnology**. V, 14. P, 642-648. 2015.

KRÓL, K; GANTNER, M; PIOTROWSKA, A. Morphological traits, kernel composition and sensory evaluation of hazelnut (*Corylus avellana* L.) cultivars grown in Poland. **Agronomy**, v. 9, n. 11, p. 703, 2019.

KOBLITZ, M. G. B. **Bioquímica de Alimentos: teoria e Aplicações Práticas**. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 2008.

LATIF, S; PFANNSTIEL, J; MAKKAR, P. S; BECKER, K. Amino acid composition, antinutrients and allergens in the peanut protein fraction obtained by an aqueous enzymatic process. **Food Chemistry**, v. 136, p. 213-217, 2013.

LI, Y; JIANGA, L; SUIA, X; QIA, B; HANA, Z. The study of ultrasonic-assisted aqueous enzymatic extraction of oil from peanut by response surface method. **Procedia Engineering**, v. 15, p. 4653 – 4660, 2011.

LIANG J; YIN Z; FANG Y; ZHANG M; ZHAO B; KONG W; ZHANG J; GU S; LIU Y; GAO F. **Method for preparing walnut seed kernel oil by adopting brine enzymatic method**. NORTHWEST NORMAL UNIVERSITY. 2013.

LIMA, U. A; AQUARONE, E; BORZANI, W; SCHMIDELL, W. **Biotechnologia Industrial. Volume 3 Processos Fermentativos**. Ed. Edgar Blucher, 2011.

LIU, B; LIANG, J; ZHAO, D; WANG, K; JIA, M; WANG, J. Morphological and compositional analysis of two walnut (*Juglans regia* L.) cultivars growing in China. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 75, n. 1, p. 116-123, 2020.

LING, B; ZHANG, B; LI, R; WANG, S. Nutritional quality, functional properties, bioactivity, and microstructure of defatted pistachio kernel flour. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 93, n. 5, p. 689-699, 2016.

LING, B; YANG, X; LI, R; WANG, S. Physicochemical properties, volatile compounds, and oxidative stability of cold pressed kernel oils from raw and roasted pistachio (*Pistacia vera* L. Var Kerman). **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 118, n. 9, p. 1368-1379, 2016.

LUSAS, E. W; LAWHON, J. T; RHEE, K. C. Producing edible oil and protein from oilseeds by aqueous processing. **Oil Mill Gazer**, v. 4, p. 28-34, 1982.

MA, F; WEI, Z; ZHANG, M; SHUAI, X; DU, L. Q. Optimization of Aqueous Enzymatic Microwave Assisted Extraction of Macadamia Oil And Evaluation of Its Chemical Composition, Physicochemical Properties, and Antioxidant Activities. **European Journal of Lipid Science and Technology**. 2022.

MACIEL, L. G; RIBEIRO, F. L; TEIXEIRA, G. L; MOLOGNONI, L; DOS SANTOS, J. N; NUNES, I. L; BLOCK, J. M. The potential of the pecan nut cake as an ingredient for the food industry. **Food Research International**, v. 127, p. 108718, 2020.

MAGUIRE, L. S; O'SULLIVAN, S. M; GALVIN, K; O'CONNOR, T. P; O'BRIEN, N. M. Fatty acid profile, tocopherol, squalene and phytosterol content of walnuts, almonds, peanuts, hazelnuts and the macadamia nut. **International Journal of Food Science & Nutrition**, v. 55, p. 171-178, 2004.

MAO, X; HUA, Y. Composition, structure and functional properties of protein concentrates and isolates produced from walnut (*Juglans regia* L.). **International journal of molecular sciences**, v. 13, n. 2, p. 1561-1581, 2012.

MERELES, L. G; FERRO, E. A; ALVARENGA, N. L; CABALLERO, S. B; WISZOVTY, L. N. Chemical composition of *Macadamia integrifolia* (Maiden and Betche) nuts from Paraguay. **International Food Research Journal**, v. 24, n. 6, 2017.

MOREIRA, L. S; CHAGAS, B. C; PACHECO, C. S. V; SANTOS, H. M; DE MENEZES, L. H, S; NASCIMENTO, M. M; BATISTA, M. A. S; DE JESUS, R. M; AMORIM, F. A. C; SANTOS, L. N; DA SILVA, E.G. P. Development of procedure for sample preparation of cashew nuts using mixture design and evaluation of nutrient profiles by Kohonen neural network. **Food Chemistry**. 2018.

NUTRIFRUIT. ORG. 2021. Tree Nut and Dried Fruit Productions Add Up to 5 Million and 3.2 Million Metric Tons, Respectively.

NUTRIFRUIT. ORG. 2022. <https://www.nutfruit.org/consumers/news/detail/why-are-nuts-good-for-us-and-how-many-should-we-eat-per-day>.

NOGUEIRA, L. F. R; FORTUNATO, G. DA S; LOVIS, K. L; FELTES, M. M. C. F. Enzymatic aqueous extraction with ultrasound: a prospective overview on the state of the art. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 8, 2022.

OGUNWOLU, S. O; HENSHAW, F. O; MOCK, H. P; MATROS, A. Production of protein concentrate and isolate from cashew (*Anacardium occidentale* L.) nut. **African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development**, v. 10, n. 5, 2010.

OLIVEIRA, M. S. R. DE; FRANZEN, F. DE L; TERRA, N. N; KUBOTA, E. H. Use of proteolytic enzymes for the production of protein hydrolysates from manually deboned chicken carcasses. **Brazilian Journal Food Technology**, v. 18, p.199-210, 2015.

PACHECO, A. M; SCUSSEL, V. M. **CASTANHA-DO-BRASIL: DA FLORESTA TROPICAL AO CONSUMIDOR**. Florianópolis, SC: Editograf, 2006.

PHAM, L. J; PHAM, C. B. **A BIOPROCESS SYSTEM FOR THE PRODUCTION OF PILI (CANARIUM OVATUM ENGL.) PULP OIL**. UNIVERSITY OF THE PHILIPPINES LOS BANOS. 2019

POLMANN, G. **EXTRAÇÃO AQUOSA ASSISTIDA POR ENZIMAS E CARACTERIZAÇÃO DAS FRAÇÕES SÓLIDA, AQUOSA E OLEOSA DE NOZ PECÃ [*Carya illinoensis* (Wangenh) C Koch]**. 2019. (Dissertação). Centro de Ciências Agrárias, Pós-Graduação em Ciências dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

POLMANN, G; BADIA, V; FRENA, M; TEIXEIRA, G. L; RIGO, E; BLOCK, J. M; FELTES, M. M. C. Enzyme-assisted aqueous extraction combined with experimental designs allow the obtaining of a high-quality and yield pecan nut oil. **LWT**, v. 113, 2019.

POLMANN, G; ROSSI, G. B; TEIXEIRA, G. L; MACIEL, L. G; DE FRANCISCO, A; ARISI, A. C. M; BLOCK, J. M; FELTES, M. M. C. High-added value co-products obtained from pecan nut (*Carya illinoensis*) using a green extraction technology. **Journal of Food Science and Technology**. v. 59, p. 2284-2294. 2021.

RAO, I. P; ARMELIN, M. J. A; DEL MASTRO, N. L. Impact of ionizing radiation on cake from Brazilian macadamia nut (*Macadamia integrifolia*) after oil extraction. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 172, p. 108813, 2020.

RIAZ, M. N; CHEEWAPRAMONG, P. Characterization of partially defatted peanut flour using dry extruder and screw pressing. **International Journal of Food Properties**, v. 12, n. 2, p. 427-437, 2009.

RIBEIRO, S. A. O; NICACIO, A. E; ZANQUI, A. B; BIONDO, P. B. F; ABREU-FILHO, B. A; VISENTAINER, J. V; GOMES, S. T. M; MATSUSHITA, M. Improvements in the quality of sesame oil obtained by a green extraction method using enzymes. **LWT – Food Science and Technology**, v. 65, p. 465 – 470, 2016.

RONCERO, J. M; ORTI-ALVAREZ, M; GIMENES-PARDO, A; GOMEZ, R; RABADAN, A; PARDO, J. E. Virgin almond oil: Extraction methods and composition. **GRASAS Y ACEITES**. 2015.

ROSENTHAL, A; PYLE, D.L; NIRANJAN, K. Aqueous and enzymatic processes for edible oil extraction. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 19, p. 402–420, 1996.

ROSENTHAL, A; PYLEB, D. L; NIRANJAN, K; GILMOUR, S;TRINCA, L. Combined effect of operational variables and enzyme activity on aqueous enzymatic extraction of oil and protein from soybean. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 28, p. 499–509, 2001.

ROVARIS, A. A. **Caracterização dos Resíduos Sólidos e Líquidos Obtidos a Partir da Extração do Óleo De Soja (*Glycine Max*) sem Solvente**. 2011. (Dissertação). Centro de Ciências Agrárias, Pós-Graduação em Ciências dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

ROVARIS, A; DIAS, C. O; CUNHA, I. P; SCAFF, R. M. C; DE FRANCISCO, A; PETKOWICZ, C. L. O; AMANTE, E. R. Chemical composition of solid waste and effect of enzymatic oil extraction on the microstructure of soybean (*Glycine max*). **Industrial Crops and Products**, v. 36, p. 405–414, 2012.

ROVARIS, A. A; BALSAMO, G. M; COSTA, A. C. O; ARISI, A. C. M; MICKE, G. A; PIOVEZAN, M; PETKOWICZ, C. L. O; AMANTE, E. R. Chemical characterization of liquid residues from aqueous enzymatic extraction of soybean oil. **LWT - Food Science and Technology**, v. 51, p. 51-58, 2013.

RYAN, E; GALVIN, K; O'CONNOR, T. P; MAGUIRE, A. R; O'BRIEN, N. M. Fatty acid profile, tocopherol, squalene and phytosterol content of Brazil, pecan, pine, pistachio and cashew nuts. **International Journal of Food Science & Nutrition**, 57, 219–228. 2006.

SALVADOR, A. A; PODESTÁ, R; BLOCK, J. M; FERREIRA, S. R. S. Increasing the value of pecan nut [*Carya illinoensis* (Wangenh) C. Koch] cake by means of oil extraction and antioxidant activity evaluation. **The Journal of Supercritical Fluids**; v. 116, p. 215–222, 2016.

SANTOS, O. V. DOS. **DESENVOLVIMENTO DE BARRAS DE ALTO TEOR PROTÉICO A PARTIR DA CASTANHA-DO-BRASIL**. 2008. (Dissertação). Ciência e Tecnologia de Alimentos, Instituto de Tecnologia, Universidade Federal do Pará, Belém/PA.

SANTOS, O. V. DOS. **ESTUDO DAS POTENCIALIDADES DA CASTANHA-DO-BRASIL: PRODUTOS E SUBPRODUTOS**. 2012. (Tese). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Pós-Graduação em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica, Área de Tecnologia de Alimentos, Universidade de São Paulo, São Paulo/SP.

SANTOS, O. V; CORREA, N. C. F; CARVALHO JR, R. N; COSTA, C. E. F; FRANÇA, L. F. F; LANNES, S. C. S. Comparative parameters of the nutritional contribution and functional claims of Brazil nut kernels, oil and defatted cake. **Food Research International**, v. 51, p.841-847, 2013.

SANTOS, M. R. L; FREITAS, S. P; COURI, S; ASCHER, J. L. R. Tecnologia enzimática aquosa na extração de óleo de amendoim (*Arachis Hypogaea*L.). **II Congresso Brasileiro de Plantas Oleaginosas, Óleos, Gorduras e Biodiesel**, p.448-453, 2005.

SANTOS, R. D; FERRARI, R. A. Extração aquosa enzimática de óleo de soja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas**, v. 25, n.1, p. 32-138, 2005.

SANTOS, S. D; MARTINS, V. G; SALAS-MELLANO, M. PRENTICE, C. Evaluation of Functional Properties in Protein Hydrolysates from Bluewing Searobin (*Prionotus punctatus*) Obtained with Different Microbial Enzymes. **Food Bioprocess Technology**, v. 4, p. 1399 – 1406, 2011.

SCHMIDT, C. G; SALAS-MELLADO, M. Influência da ação das enzimas Alcalase® e Flavourzyme no grau de hidrólise das proteínas de carne de frango. **Química Nova**, v. 32, n. 5, p. 1144-1150, 2009.

SEN, D; KAHVECI, D. Production of a Protein Concentrate from Hazelnut Meal Obtained as a Hazelnut Oil Industry By-Product and Its Application in a Functional Beverage. **Waste and Biomass Valorization**, v. 11, n. 10, p. 5099-5107, 2020.

SHARMA, A; GUPTA, M. N. Ultrasonic pre-irradiation effect upon aqueous enzymatic oil extraction from almond and apricot seeds. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 13, p. 529–534, 2006.

SHUAI, X; DU, L; MA, F; ZHANG, M; TU, X. **Method for synchronously extracting protein peptide and vegetable grease from macadimia nut.** SOUTH SUBTROPICAL CROPS RESEARCH INSTITUTE, CHINESE ACADEMY OF TROPICAL AGRICULTURAL SCIENCES. 2018.

SHIBLI, S; SIDDIQUE, F; RAZA, S; AHSAN, Z. Chemical composition and sensory analysis of peanut butter from indigenous peanut cultivars of Pakistan. **Pakistan Journal of Agricultural Research**, v. 32, n. 1, p. 159, 2019.

SILVA, M. L. T; FELTES, M. M. C; BLOCK, J. M; AMBONI, R. D. de M. C; NUNES, I. L; DUTRA, M. de O; SIMÃO, G. P; KECHINSKI, C.P. **FORMULAÇÃO DE CREME FUNCIONAL CONTENDO ÓLEO DE CASTANHA E TORTA DE NOZ, COM CACAU, E PROCESSO DE OBTENÇÃO DO MESMO.** 2021, Brasil. Patente: Privilégio de Inovação. Número do registro: BR1020210156813, Instituição de registro: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial. Depósito: 09/08/2021.

SMITH, D. D; AGARWAL, Y. C; SARKAR, B. C; SINGH, B. P. N. Enzymatic hydrolysis pretreatment for mechanical expelling of soybeans. **Journal American Oil Chemistry Society**, v. 70, p. 885-889, 1993.

SOUSA, A. G. O; FERNANDES, D. C; ALVES, A. M; DE FREITAS, J. B; NAVES, M. M. V. Nutritional quality and protein value of exotic almonds and nut from the Brazilian Savanna compared to peanut. **Food Research International**. V, 44, P, 2319-2325. 2011.

SOUZA, M. L; MENEZES, H. C. Processamentos de Amêndoas e Torta de Castanha-do-Brasil e Farinha de Mandioca: Parâmetros de Qualidade. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n.1, p. 120-128, 2004.

SOUZA, T. S. P; DIAS, F. F. G; KOBLITZ, M. G. B; BELL, J. M. L. N. de M. Aqueous and Enzymatic Extraction of Oil and Protein from Almond Cake: A Comparative Study. **Processes**. 2019.

SUMMO, C; PALASCIANO, M; DE ANGELIS, D; PARAISO, V. M; CAPONIO, F; PASQUALONE, A. Evaluation of the chemical and nutritional characteristics of almonds (*Prunus dulcis* (Mill). DA Webb) as influenced by harvest time and cultivar. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 98, n. 15, p. 5647-5655, 2018.

Teixeira, G. L; Ghazani, S. M; Corazza, M. L; Marangoni, A. G; Ribani, R. H. Assessment of subcritical propane, supercritical CO₂ and Soxhlet extraction of oil from sapucaia (*Lecythis pisonis*) nuts. **The Journal of Supercritical Fluids**, 133, 122-132. 2018.

WANG, L; YANG, B; HAN, G; XIE, H. **Extraction of hickory nut oil from water enzyme**. SHENYANG APPLIED ECOLOGY INST., CHINESE ACADEMY OF SCIENCES. 2008.

WIKIERA, A; MIKA, M; STARZYNSKA-JANISZEWSKA, A; STODOLAK, B. Application of Celluclast 1.5L in apple pectin extraction. **Carbohydrate Polymers**, v. 134, p. 251 – 257, 2015.

YANG, J. Brazil nuts and associated health benefits: A review. **LWT -Food Science and Technology, Sheffield**, v. 42, n. 10, p.1573-1580, 2009.

YANG, B; YANG, H; LI, J; LI, Z; JIANG, Y. Amino acid composition, molecular weight distribution and antioxidant activity of protein hydrolysates of soy sauce lees. **Food Chemistry**, v. 124, p. 551– 555, 2011.

YUAN, Y; MA, L; CAO, X; ZHONG, Y; WANG, M; TIAN, T. **Method for preparing walnut oil by-product oil-in-water emulsion by aqueous enzymatic method.** NORTHEAST AGRICULTURAL UNIVERSITY. 2021.

YUSOFF, M. M; GORDON, M. H; NIRANJAN, K. Aqueous enzyme assisted oil extraction from oil seeds and emulsion de-emulsifying methods: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 41, p. 60 – 82, 2015.

YUSOFF, M; MICHAEL H; GORDON, M. H; EZEH, O; NIRANJAN, K. Aqueous enzymatic extraction of *Moringa oleifera* oil. **Food Chemistry**, v. 211, p. 400–408, 2016.

ZANQUI, A. B; DA SILVA, C. M; RESSUTTE, J. B; DE MORAIS, D, R; SANTOS, J. M; EBERLIN, M. N; GOMES, S. T. M; MATSUSHITA, M. Extraction and assessment of oil and bioactive compounds from cashew nut (*Anacardium occidentale*) using pressurized n-propane and ethanol as cosolvent. **Journal Pre-proof**. 2020.

ZHANG, S. B; WANG, T. Destabilization of Emulsion Formed During Aqueous Extraction of Peanut Oil: Synergistic Effect of Tween 20 and pH. **Journal of the American Oil Chemist's Society**, v. 93, p.1551-1561, 2016.

APÊNDICE

Lista das atividades realizadas durante o Mestrado, relacionadas ao projeto de dissertação e ao projeto financiado pelo CNPq/SESCOOP coordenado pela Professora Dra Maria Manuela Camino Feltes (Processo CNPq nº 403195/2018-7).

1 - Participação em projeto PIBIC e coautoria no artigo relacionado ao mesmo:

NOGUEIRA, L. F. R; FORTUNATO, G. DA S; LOVIS, K. L; FELTES, M. M. C. F. Enzymatic aqueous extraction with ultrasound: a prospective overview on the state of the art. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 8, 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i8.30670>;

2 - Difusão da Ciência, Tecnologia e Inovação: Participação na produção de vídeo divulgado no canal do CCA/UFSC no YouTube em 2020, sobre as características da castanha-do-brasil, e com um tutorial de bolo funcional contendo esta matéria-prima. Disponível em <https://youtu.be/rdvCYdUVGI0>;

3 - Participação na elaboração do relatório parcial do projeto financiado pelo CNPq/SESCOOP (Processo CNPq nº 403195/2018-7), intitulado “Identificação de oportunidades e desenvolvimento de novos produtos alimentícios em cooperativa de matéria-prima oleaginosa cultivada no Brasil”.