

Extração de óleos essenciais do *Caryocar Coriaceum* (pequi) por vias enzimáticas

Extraction of essential oils from *Caryocar Coriaceum* (pequi) by enzymatic pathways

Extracción de aceites esenciales de *Caryocar Coriaceum* (pequi) por vías enzimáticas

Recebido: 18/11/2021 | Revisado: 26/11/2021 | Aceito: 01/12/2021 | Publicado: 12/12/2021

Ariana Camilo Nunes

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8731-0508>
Faculdade Independente do Nordeste, Brasil
E-mail: arianacnunes@gmail.com

Ana Luíza Caíres Souza

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3782-0446>
Faculdade Independente do Nordeste, Brasil
E-mail: analuzacs2699@gmail.com

Tayanne Andrade dos Santos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7977-6308>
Faculdade Independente do Nordeste, Brasil
E-mail: tayanne.as@hotmail.com

Tatielle Pereira Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8086-0574>
Faculdade Independente do Nordeste, Brasil
E-mail: tatielle@fainor.com.br

Resumo

A espécie *Caryocar Coriaceum* (pequi), como é popularmente conhecida, é um fruto que em algumas regiões é bastante utilizado na culinária popular brasileira. Além de possuir um gosto peculiar, o óleo extraído do fruto traz benefícios a saúde sendo muito utilizado na medicina popular. Frente ao exposto, este estudo apresentou como objetivo analisar, através de experimento com abordagem qualitativa, a viabilidade econômica da extração de óleos essenciais de pequi por via enzimática. Através da suspensão do fungo, *Rhizopus Microsporus*, foi estabelecido o melhor tempo de fermentação de 72 horas e a atividade hidrolítica mais eficiente para que através do extrato multienzimático da celulase fosse realizado a técnica de extração do óleo do pequi. Após a realização de todas estas etapas para obtenção do óleo, seja por meio de enzimas ou água, observou-se que a enzima, *Rhizopus Microsporus*, possui uma grande atividade para a extração do óleo essencial do pequi, quando se compara a hidodestilação somente com o óleo e água. Dessa forma, a utilização do fungo filamentosos, *Rhizopus Microsporus*, pode ser uma alternativa viável na extração de óleos essenciais, tornando o processo mais econômico por reduzir o tempo de extração e a energia do processo e ser ambientalmente correto, ou seja, tornou o processo da extração do óleo menor, visto que, com a enzima amplia essa extração.

Palavras-chave: *Caryocar Coriaceum*; Enzimas; Extração; Óleos essenciais.

Abstract

The species *Caryocar Coriaceum* (pequi), as it is popularly known, is a fruit that in some regions is widely used in Brazilian popular cuisine. In addition to having a peculiar taste, the oil extracted from the fruit brings health benefits and is widely used in popular medicine. Given the above, this study aimed to analyze, through an experiment with a qualitative approach, the economic viability of extracting essential oils from pequi by enzymatic route. Through the suspension of the fungus, *Rhizopus Microsporus*, the best fermentation time of 72 hours and the most efficient hydrolytic activity were established, so that the pequi oil extraction technique was carried out using the multienzymatic cellulase extract. After performing all these steps to obtain the oil, either through enzymes or water, it was observed that the enzyme, *Rhizopus Microsporus*, has a great activity for the extraction of essential oil from pequi, when compared to wet-distillation only with oil and water. Thus, the use of the filamentous fungus, *Rhizopus Microsporus*, can be a viable alternative in the extraction of essential oils, making the process more economical by reducing the extraction time and energy of the process and being environmentally correct, in other words, made the process of extracting the oil smaller, since, with the enzyme, it expands this extraction.

Keywords: *Caryocar Coriaceum*; Enzymes; Extraction; Essential oil.

Resumen

La especie *Caryocar Coriaceum* (pequi), como se le conoce popularmente, es una fruta que en algunas regiones es muy utilizada en la cocina popular brasileña. Además de tener un sabor peculiar, el aceite extraído de la fruta aporta beneficios para la salud y es muy utilizado en la medicina popular. Dado lo anterior, este estudio tuvo como objetivo analizar, a través de un experimento con enfoque cualitativo, la viabilidad económica de la extracción de aceites

esenciales de pequi por vía enzimática. Mediante la suspensión del hongo *Rhizopus Microsporus* se estableció el mejor tiempo de fermentación de 72 horas y la actividad hidrolítica más eficiente, por lo que se realizó la técnica de extracción del aceite de pequi utilizando el extracto multienzimático de celulasa. Luego de realizar todos estos pasos para obtener el aceite, ya sea a través de enzimas o agua, se observó que la enzima, *Rhizopus Microsporus*, tiene una gran actividad para la extracción de aceite esencial de pequi, en comparación con la destilación húmeda solo con aceite y agua. Así, el uso del hongo filamentoso, *Rhizopus Microsporus*, puede ser una alternativa viable en la extracción de aceites esenciales, haciendo más económico el proceso al reducir el tiempo de extracción y la energía del proceso y ser ambientalmente correcto, es decir, hizo que el proceso de extracción del aceite fuera más pequeño, ya que, con la enzima, expande esta extracción.

Palabras clave: *Caryocar Coriaceum*; Enzimas; Extracción; Aceite esencial.

1. Introdução

A Chapada Diamantina é protegida na categoria de parque nacional, situada no centro do estado brasileiro da Bahia é uma região de serras, na qual, Rio de Contas pertence a esta área, cujo município possui uma população estimada em 2020 era de 12.932 habitantes, considerada como a primeira cidade planejada do Brasil com 1.050 m de altitude. Rio de Contas está situado na Serra das Almas e compreende áreas baixas, recobertas de caatinga, e chapadas elevadas com vegetação do tipo “gerais”, onde o clima é ameno (IBGE, 2020). Uma das características marcantes encontradas é por ser uma região que possuem muito pequi, de um modo geral, possui uma vegetação bastante diversificada, variando de acordo com as condições climáticas da região (Silva et al., 2003, p. 45).

O pequizeiro é uma planta perene, com safra entre os meses de novembro e fevereiro, dependendo da região (Lorenzi, 2000). Por ser explorada de forma extrativista, é um fruto típico da região do cerrado, pertencente ao gênero *Caryocar* e à família *Caryocaraceae*. A espécie *Caryocar Coriaceum* ocorre nos Estados da Bahia, Goiás, Piauí, Ceará e Pernambuco. Essas regiões ricas em pequi têm suas árvores como frondosa e engalhada, podendo alcançar até dez metros de altura. Seu fruto, de cheiro e sabor peculiares, é bastante apreciado pela população nas regiões de ocorrência (Lorenzi, 1992). De uma maneira geral, mesmo com a exploração extrativa, inúmeras famílias se beneficiam na época de safra do pequi, tendo a cultura como fonte de renda desde a comercialização do óleo até a venda do fruto.

Além disso, o pequi é rico em carotenóides, substâncias químicas do tipo pigmento que encontramos na natureza e que possuem importantes funções biológicas no ser humano, atuando na prevenção de alguns tipos de câncer, na inibição das mucosas contra úlceras gástricas, na capacidade de prevenir a fotossensibilização em certas doenças de pele, no aumento da resposta imunológica a determinados tipos de infecção e nas propriedades antienvhecimento. Encontra-se ainda na composição do óleo de pequi a vitamina A e diversos ácidos graxos (Rieger, 1987).

Vale lembrar que o óleo essencial atua na captura de fragrância e muitos outros óleos além da fragrância contem princípio ativo que agem em certas plantas medicinais, que é o caso do óleo do pequi que além destas funcionalidades, pode ser utilizado no preparo de emulsões que são empregadas em algumas formas farmacêuticas como em cosméticos, para aplicação tópica, ou seja, as emulsões por ser um sistema instável sofre consequências com mudanças na temperatura, pressão e volume, resultante da mistura de dois líquidos imiscíveis entre si e uma terceira fase contendo agente emulsificante que é utilizado para aumentar a sua estabilidade. Portanto, o óleo do pequi não contem tais restrições e pode ser incorporado em suas fases ativos hidrossolúveis e/ou lipossolúveis, dependendo de suas características e dos efeitos desejados (Junior, 2004).

Existe uma variedade de métodos para a extração do óleo, que pode variar de acordo ao seu tipo de rendimento. Entre os tipos de métodos mais utilizados cita-se as extrações por solventes ou por prensagem mecânica (Freire et al., 2005). Neste estudo a técnica abordada é a extração enzimática, na qual, sua característica principal está na utilização da água como solvente e as enzimas para a hidrólise das paredes celulares que prendem o óleo na oleaginosa, ou seja, é um processo ambientalmente correto pois não irá utilizar solventes tóxicos e inflamáveis.

Frente ao exposto, esta pesquisa apresenta como objetivo analisar, através de experimento, a viabilidade econômica da extração de óleos essenciais de pequi por via enzimática por fermentação em estado sólido de cacau e café do fungo *Rhizopus Microsporus*.

2. Metodologia

Este estudo caracterizou-se como uma pesquisa experimental com abordagem qualitativa, onde a pesquisa para o embasamento teórico contou com dados que submetem o fenômeno estudado às condições controladas da experiência, que podem abranger os mais variados campos (Gil, 2008).

O caráter experimental desta pesquisa consistiu em avaliar a relação entre causas e efeitos de um determinado fenômeno. Considerando o método experimental a melhor metodologia aplicada no setor científico, esta pesquisa é capaz de isolar as estruturas do meio exterior para que não haja nenhum tipo de interferências.

Assim, a intencionalidade inerente aos atos das pessoas, quanto às reações, está incorporada na pesquisa qualitativa, cujo tipo explica as complicações das relações consideradas essência e resultado da atividade humana criadora, afetiva e racional que pode ser apreendida no cotidiano, por meio da vivência, suas crenças, concepções, valores, significados e práticas individuais que irá ser compreendido a complexidades e os detalhes das informações obtidos na pesquisa. E para o pesquisador experimental, é seu dever cumprir a legislação vigente para que não descumpra nenhuma regra que possa colocar em pauta a qualidade de seu trabalho e resultado, ou seja, os produtos utilizados, mesmo em fase de experimentação, precisam estar aprovados pela ANVISA (Demo, 2000).

A pesquisa foi realizada no laboratório de saúde de uma instituição de ensino superior privada, no interior do Sudoeste da Bahia, Brasil.

De posse das análises de extração do pequi por via enzimática realizada em laboratório, foram realizadas comparações em artigos e periódicos com o resultado obtido. Após isso, foi identificado se a modificação enzimática está entre os parâmetros aceitos de sua atividade. A extração enzimática é um dos métodos mais alternativos, caracterizado por ser uma técnica simples e ambientalmente sustentável, uma vez que possui maior seletividade e especificidade do produto e menos subprodutos prejudiciais aos testes, ela tem o objetivo de delinear se o que foi pensado para este estudo está entre os parâmetros e se conseqüentemente responde às questões da pesquisa (Azevedo, 2013).

Por ser uma pesquisa experimental, o principal objetivo é dar amplo apoio a área biológica, genética, comportamentais, clínicos, ambientais, entre outros. Diante destes preceitos humanos e naturais, a ética está conectada a este tipo de pesquisa, pois não há implicações morais e ambientais, ou que traga malefícios e riscos aos humanos.

2.1 Experimento

- Microrganismo e inóculo

Para esse estudo foram utilizados fungos filamentosos cedidos pela FIOCRUZ. A cultura foi cultivada em Agar Batata-Dextrose a 37 °C por 72h e permaneceu a 4 °C para manutenção. A suspensão do fungo *Rhizopus Microsporus* (011240290N) foi preparada previamente e cultivado em Agar Batata-Dextrose em uma placa de petri durante um período de 3 dias em um incubadora bacteriológica a 37 °C.

- Resíduo lignocelulósicos

O estudo selecionou o café e o cacau como resíduos agroindustriais, fornecidos por indústrias de chocolate de Ilhéus e indústria de café localizada na cidade de Vitória da Conquista, Bahia, Brasil. Este resíduo foi seco em estufa a 50 °C, por 24

horas. Em seguida, o resíduo foi triturado em moinho até alcançar o tamanho de partícula desejado, posteriormente foi transferido para um recipiente de plástico até a utilização. Na qual, foi efetuada a análise da composição físico-química.

- Fermentação em estado sólido

Foram utilizados 10 g de resíduo agroindustrial, sendo 7 g de resíduo de café e 3 g de resíduo de cacau, para cada frasco Erlenmeyer de 150 mL, em seguida foi passado pela esterilização em autoclave por 20 min a 121 °C. Cada frasco Erlenmeyer de 150 mL, foi utilizado um disco micelial de 1,5 cm do *Rhizopus Microsporus* em cada Erlenmeyer e água destilada estéril foi adicionado ao meio até atingir a umidade desejada (50%) e foi incubado em uma câmara de germinação em um ambiente controlado à temperatura de 37 °C por 3 dias. A cada 24 h foi determinada a atividade do complexo celulolítico, com o intuito de estabelecer o melhor tempo de fermentação e a atividade hidrolítica mais eficiente (Santos, 2012).

- Obtenção do Extrato Multienzimático

Para a obtenção dos extratos enzimáticos após o processo fermentativo foi adicionado 50 mL de tampão de acetato de sódio (100 M) com pH 6 ao substrato fermentado, e a mistura foi submetida a agitação e a fase líquida será separada por filtração utilizando a peneira e posteriormente armazenado em um recipiente fechado sob acondicionamento (Santos, et al., 2011).

- Determinação da atividade enzimática

Atividade de Carboximetilcelulase (endoglucanase)

A atividade da enzima CMCase (endoglucanase) foi determinada através da dosagem dos açúcares redutores produzidos na degradação da carboximetilcelulose ou CMC (SIGMA) a 2% (p/v). Os ensaios reacionais foram conduzidos em tubos de ensaio contendo total de 1 mL contendo 50 µL de extrato bruto, frações do isolado ou enzima purificada, 100 µL de solução de carboximetilcelulose e 150 µL de tampão de acetato de sódio (0,1 M, pH 6). No branco da análise foi adicionado 100 µL de CMC e 200 µL de solução tampão. Todas as amostras foram incubadas em banho-maria a 50°C durante 40 minutos e depois 10 minutos em banho de gelo com a interrupção da reação foi realizada com a adição de 200 µL de DNS. Os tubos foram submersos em água fervente por 5 minutos e posteriormente foram adicionados 500 µL de água destilada. A leitura da absorbância foi medida na faixa de 540 nm realizada em espectrofotômetro (BEL PHOTONICS 2000 UV). Uma unidade de atividade enzimática (U) é definida como a quantidade de enzima necessária para liberar 1 µmol de produto por minuto (Ghose, 1987).

- Aplicação das Multienzimas no Pequi

Foi realizado um pré-tratamento *Caryocar Coriaceum*, onde foram congelados até o seu uso, antes da extração do óleo essencial. Este pré-tratamento consistiu na aplicação de multienzimas *Caryocar Coriaceum*. Para isso, foi realizada a raspagem de 30 gramas da biomassa foliar fresca, foram colocadas em balão de fundo redondo com boca esmerilhada com capacidade de 1L, onde foi adicionado a concentração de multienzimas 50 mL, sendo adicionado água destilada até obter um volume final de 1000 mL. Posteriormente, os balões foram colocados em banho termostático, a 50°C, e foram avaliadas durante o tempo de 60 min. Ao término do pré-tratamento estabelecido à extração dos óleos essenciais foi conduzida pelo processo de hidrodestilação, onde os balões foram acoplados ao aparelho de Clevenger. Foram desenvolvidos testes controle em todas as etapas do processo. No controle, as biomassas ficaram submersas em 1000 mL de água destilada nas faixas de temperaturas e tempos avaliadas (Tavares, 2012).

- Extração do Óleo Essencial

A extração do óleo essencial foi realizada no laboratório de saúde, de uma instituição de ensino superior privada, no interior do Sudoeste da Bahia. As amostras foram submetidas ao processo de extração por hidrodestilação usando um aparelho Clevenger. Cerca de 30g da raspagem do *Caryocar Coriaceum* e foram colocados em balão de fundo redondo com capacidade de 1L, sendo adicionados água destilada e extrato multienzimático e após o tempo de contato, ficou em um período no funil de separação. Os teores foram determinados pela quantificação da massa dos óleos, utilizando balança analítica e expressa em percentual massa/massa (g de óleo por 100g de material vegetal). Os frascos contendo os óleos foram mantidos em resfriamento até o momento da análise cromatográfica. A equação (1) representa a fórmula do teor de óleo:

Teor% = g (massa de óleo)/g (massa de biomassa foliar fresca) x 100 (1) (Reis, 2015).

3. Resultados e Discussão

Os resultados da prospecção química evidenciaram que para a produção enzimática são necessários avaliar alguns aspectos importantes que são associadas às condições de cultivo, como a temperatura, tempo e umidade. Nesta pesquisa a incubação ocorreram por 48 horas a 37° C com umidade controlada. Diante disso, as condições do fungo filamentosos, *Rhizopus Microsporus*, foram semeadas em resíduos do café e cacau, utilizando um filete do fungo correspondente a 1/4, na qual, os resultados obtidos de sua atividade amilolíticas, está relacionado as linhagens selecionadas para o inóculo, e dependendo da escolha de cultivo pode inferir no potencial para produção de amilases.

O resíduo do cacau e café demonstram alta capacidade fermentativa, sendo importante para o meio ambiente quanto a melhora da economia. Desta maneira, foi utilizado estirpes de leveduras e o resíduo obtido da polpa do café e as águas residuária da lavagem do grão do café como substrato para a fermentação, na qual, foi possível evidenciar o efeito da composição do meio de cultivo e do tamanho de inóculo do desempenho fermentativo de levedura pré-selecionada (Hermosa, 2014).

Ademais, o resíduo denominado farelo de cacau, também conhecido como casca ou testa da semente do cacau tem desempenhado um papel de destaque no reaproveitamento de resíduos sólidos, pois, a fermentação em estado sólido, em virtude do crescimento microbiano, ocorre a síntese de diversos compostos, muitos dos quais apresentam grande interesse para o segmento industrial, além de elevado valor agregado (Lessa, 2012).

As amilases são enzimas que têm por função degradar o amido, e a sua produção é uma das etapas mais delicadas em escala industrial, nestas condições, vem se buscando fontes de carbono, nitrogênio e outros nutrientes, para a obtenção da mesma de forma prática e custo acessível (Akcan, 2011). Com isso, a busca em se utilizar substratos sintéticos e baratos vem ganhando muitas proporções, pois a utilização de resíduos agrícolas e industriais surge como alternativa economicamente rentável para a produção industrial de enzimas. Dessa forma, os principais resíduos agroindustriais têm-se casca de café, cacau, bagaço de cana-de-açúcar, farelo de mandioca, farelo de trigo, polpa de beterraba, farelo e casca de arroz, entre outros.

O resíduo utilizado no processamento de semear o fungo filamentosos, apresenta uma composição rica em compostos lignocelulósicos, sendo, proveniente de um fruto rico em nutrientes, que tem sido gerado em uma quantidade relativamente expressiva. Foi observado que este resíduo, abundante é de baixo custo, podendo-se tornar um substrato alternativo a ser utilizado em fermentação em estado sólido para produção de endoglucanases, xilanases, amiloglucosidases e outras enzimas.

Já as celulases, são enzimas responsáveis pela degradação da celulose, principal composto presente nas células vegetais. Enzimas são moléculas capazes de “acelerar” reações químicas e estão presentes em todas as células. A celulose é um polissacarídeo formado por várias unidades de glicose unidas entre si através de ligações químicas. As celulases realizam a quebra das ligações químicas existentes entre as unidades de glicose que formam a celulose. No caso das celulases, três

enzimas fazem parte desse grupo, elas recebem os nomes de endoglucanases, exoglucanases e beta-glicosidases (Zanchetta, 2013). Diante disso, obtém-se uma reação da celulose satisfatória com a média de leitura de espectrofotômetro de (0,446 A).

A extração enzimática, que se caracteriza por utilizar a água como solvente e enzimas para a hidrólise das paredes celulares. É um método ambientalmente correto sem danos ao meio ambiente e existe o benefício da não utilização de solventes tóxicos como extração com solventes sendo eles, hexano e etanol. Com isso, a técnica de extração enzimática é pouco estudada na literatura e é um processo seguro e fácil. Após a extração do óleo é realizado um cálculo de rendimento, levando em conta suas propriedades físico-químicas (Azevedo, 2013).

Além disso, o pré-tratamento enzimático pode reduzir o tempo de hidrodestilação, apresentando vantagens do ponto de vista de custo de produção e de integridade do componente majoritário do óleo. Vale ressaltar que pode ocorrer diferenças quando submetido ao pré-tratamento enzimático, como a modificação na estrutura vegetal e esse parâmetro pode ser explicada pela atuação de diferentes enzimas presentes no extrato enzimático bruto, tais como; xilanases, celulases e amiloglucosidades.

Este estudo demonstrou, ainda, que durante o pré-tratamento que teve a duração de 60 minutos em banho maria a 50°C e posteriormente adicionado ao cleverger a temperatura de 100° C, na qual, atingindo o seu ponto de ebulição a 35 minutos teve uma redução de 750 mL do vapor d'água durante 5 horas, percebeu a necessidade da utilização de um funil de separação, sendo retirado após 24 horas. Pois, devido a quantidade de massa obtida do pequi tornou-se a hidrodestilação demorada, e a utilização do funil tornou-se possível uma melhor separação do óleo, pesando em torno de 3 g de óleo para 30 g obtida de biomassa do pequi.

Em busca de maiores resultados da pesquisa foi feita um segundo processo de extração do óleo sem adição do extrato enzimático, utilizando somente a água destilada, sendo que o processo de ebulição ocorreu com 30 minutos, com 4 horas de hidrodestilação. Entretanto, devido à baixa obtenção do óleo a partir da utilização da água colocou-se em um funil de separação com duração de 3 horas obtendo a separação total de óleo e água, obtendo 1 g de óleo para 30 g de biomassa do pequi.

Após a realização de todas estas etapas para obtenção do óleo seja por meio de enzimas ou água, observou-se que a enzima celulase do fungo *Rhizopus Microsporus*, possui uma grande atividade para a extração do óleo essencial do pequi, que quando se compara ao O/A, observa-se que o rendimento foi pouco. E quando analisados esses parâmetros frente a uma escala industrial é notório a eficácia e custo/benefício de sua extração, sendo uma alternativa valiosa para o mercado industrial que busca não utilizar solventes orgânicos que danificam o meio ambiente, visto que, as características obtidas das enzimas são eficazes para processo de hidrólise das paredes celulares que prendem o óleo na oleaginosa, ou seja, é perceptível que é um processo ambientalmente correto pois não irá utilizar solventes tóxicos e inflamáveis..

4. Considerações Finais

A utilização de extratos multienzimáticos obtidas por meio da fermentação em estado sólido do fungo filamentosos, *Rhizopus Microsporus*, pode ser uma alternativa viável na extração de óleos essenciais, tornando o processo da extração do óleo menor, visto que, com a enzima amplia essa extração, sendo um processo menos oneroso e mais econômico por reduzir o tempo de extração e a energia do processo e ser ambientalmente correto. Além de encontrar poucas revisões de literatura, o que denota o pouco conhecimento sobre os benefícios do fruto e da metodologia aqui aplicada, este estudo demonstrou-se satisfatório nos parâmetros obtidos, embora, vale ressaltar, que realizar testes adicionais quanto a aplicabilidade do óleo essencial do pequi (*Caryocar Coriaceum*) exerce grandes benefícios. Logo, sugere-se a realização de outras pesquisas a fim de buscar evidências que possam validar as técnicas aqui apresentadas.

Referências

- Akcan, N. (2011). High Level Production of Extracellular α -Amylase from *Bacillus licheniformis* ATCC 12759 in Submerged Fermentation. *Romanian Biotechnological Letters*, 16(6)
- Azevedo, S. H. G., Extração Enzimática de Óleo e Produção *in situ* de Biodiesel a partir da *Moringa Oleífera* LAM. 2013. (Dissertação de Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. Universidade Federal do Rio Grande do Norte.
- Balsan, G. A., Caracterização de uma Celulase Comercial visando a Hidrólise de Resíduos Agroindustriais. 3p. 2011. (Dissertação de Mestrado). Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos. Campus de Erechim-URI.
- Castro, A. M., & Pereira J., N. (2010) Produção, propriedades e aplicação de celulases na hidrólise de resíduos agroindustriais. *Química Nova*, 33(1), 181-188, http://quimicanova.sbq.org.br/detalhe_artigo.asp?id=5092
- Demo, P. (2000). *Metodologia do conhecimento científico*. Atlas
- Faleiro, F. G., Gama, L. C., Farias-Neto, A. L., & Sousa, E. S. (2008). O simpósio nacional sobre o cerrado e o simpósio internacional sobre savanas. In: Faleiro, F. G., Farias-Neto, A. L. (Ed.). *Savanas: desafios e estratégias para o equilíbrio entre sociedade, agronegócio e recursos naturais*. Planaltina: Embrapa Cerrados, p. 32-46.
- Freire, R. M. M., Narain, N., Miguel, A. M. R. O., & Santos, R. C. (2008). Aspectos nutricionais de amendoim e seus derivados. In: Santos, R. C. (Ed.) *O agronegócio do amendoim no Brasil*. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2005. p. 391 – 395.
- Galindo, H. M. (2016). Produção e caracterização de exoglucanases e endoglucanases de 425 mucorales utilizando fermentação sólida. 2016. Dissertação de Mestrado. Universidade 426 Federal de Pernambuco.
- Gil, A. C. (2008). *Métodos e técnicas de pesquisa social*. (6a ed.), Atlas..
- Ghose, T. K. (1987). Measurement of cellulase activities. *Pure & Applied Chemistry*, 59, 257-268.
- Hermosa, V. A. B. (2014). Aproveitamento de Resíduo do Processamento semi-seco do Café para a Produção de Compostos de valor agregado. (Dissertação de Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola. Universidade Federal de Lavras.
- Ibge. Diretoria de Pesquisas, Coordenação de População e Indicadores Sociais. Estimativas da população residente com data de referência 1o de julho de 2020.
- Junior, A. L. V. (2014). emulsões. *Int. J. Pharm. Compounding*, 6(3),168-170,172-174,176.
- Junior, P. W. et al. (2006). Leishmanicidal, antibacterial, and antioxidant activities of *Caryocar brasiliense* Cambess leaves hydroethanolic extract. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 16, 625- 630.
- Lessa, O. A. (2012). Estudo da Fermentação do Farelo de Cacau por *Penicillium roqueforti* e Avaliação da Composição Química e Atividade Antioxidante. (Dissertação de Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Área de Concentração em Engenharia de Processos de Alimentos. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia.
- Lima, A. (2006). Ouro do Cerrado. *Revista Minas faz Ciência*, 38-41.
- Lorenzi, H. (1992). Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: Plantarum, 352p
- Lorenzi, H. (2000). Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: Plantarum.
- Mariano, R. G. B. (2008). Extração do óleo da polpa do Pequi (*Caryocar brasiliense*) por Processos Convencionais Combinados com Tecnologia Enzimática. (Dissertação de Mestrado). Ciência e Tecnologia de Alimentos – Instituto de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação.
- Matos, F. . A. (2007). Plantas medicinais: guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no Nordeste do Brasil. (3a ed.), Imprensa Universitária.
- Miller, G. L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, 31, 426-428.
- Pozo, O. V. C. (1997). pequi (*Caryocar brasiliense*): uma alternativa para o desenvolvimento sustentável do cerrado no norte de Minas Gerais. 1997. 100 f. Dissertação (Mestrado em Administração Rural) - Universidade Federal de Lavras. <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/52864> >
- Reis, N. D. C. (200815). Aplicação de Enzimas produzidas por *Aspergillus niger* na Extração do Óleo Essencial de *Mentha arvensis*. 49-50p. 2015 (Dissertação de mestrado). Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência dos Alimentos. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB.
- Rieger, M. M. (1987). Skin lipids and their importance to cosmetic science. *Cosmet. Toiletries*, 102(7), 45-49, <<http://pascalfrancis.inist.fr/vibad/index.php?action=getRecordDetail&idt=3354960>>
- Raimbault, M. (1987). General and microbiological aspects of solid substrate fermentation. *Electronic J. Biotechnol.* 1, 174.
- Robinson, T., & Nigam, P., (20083). Bioreactor design for protein enrichment of agricultural residues by solid state fermentation. *Biochem. Eng. J.* 13, 197
- Santos, T. C., Cavalcanti, I. S., Bonomo, R. C. F., Santana, N. B., & Franco, M. (2011)b. Optimization of productions of cellulolytic enzymes by *Aspergillus niger* using residue of mango a substrate. *Ciência Rural* (UFSM. Impreso), 41, 2210-2216.
- Santos, T. C. et al. (2011) Determinação da atividade de CMCase e FPase da estipe fúngica 386 *Rhizopus* sp. através da bioconversão do resíduo de seriguela (*Spondias purpúrea* L.). 387 *Journal of Health Sciences*, 13(3)

Santos, T. C., Gomes, D. P. P., Bonomo, R. C. F., & Franco, M. (2012). Optimisation of solid state fermentation of potato peel for the production of cellulolytic enzymes. *Food Chemistry*, 133, 1299-1304

Santos, P. S. et al. (2018) Fermentação em estado sólido em resíduos agroindustriais para a produção de enzimas: uma revisão sistemática. *The Journal of Engineering and Exact Sciences*, 4(2), 181-188

Silva, J. M. C. da, Tabarelli, M., Fonseca, M. T. da, & Lins, L. V. (2003). Biodiversidade da caatinga: áreas e ações prioritárias para a conservação. Brasília, DF: Ministério do Meio Ambiente: Universidade Federal de Pernambuco, p. 48-78

Tavares, I. M. C. Produção e aplicação de extratos enzimáticos brutos produzidos em fermentação em estado sólido por *Aspergillus Níger* a partir de resíduos agroindustriais na extração de óleo essencial de *Cróton grewoides*. Dissertação Mestrado, 67p. 2012.