OS TIPOS DE ENZIMAS E SUA APLICAÇÃO NOS ALIMENTOS

As enzimas são amplamente utilizadas na indústria alimentícia, atendendo a vários segmentos desse mercado. As reações enzimáticas são muito importantes em alimentos, delas dependem não só a formação de compostos altamente desejáveis, como podem ter consequências indesejáveis.

DEFINIÇÃO E CLASSIFICAÇÃO

As enzimas foram descobertas no século XIX, aparentemente por Louis Pasteur, que concluiu que a fermentação do açúcar em álcool pela levedura era catalisada por fermentos. Pasteur postulou que esses fermentos (as enzimas) eram inseparáveis da estrutura das células vivas do levedo. Em 1878, empregou-se pela primeira vez o termo "enzima" para descrever estes fermentos, usando a palavra grega ενζυμον, que significa "levedar".

Quimicamente, as enzimas são proteínas com uma estrutura química especial, contendo um centro ativo, denominado apoenzima e, algumas vezes, um grupo não protéico, denominado coenzima. A molécula toda (apoenzima e coenzima) é dado o nome de haloenzima.

Dependendo do tipo de ligação, o grupo prostético pode ser separado da proteína por métodos brandos, como por exemplo, a diálise. Em alguns casos, as enzimas podem estar ligadas a moléculas orgânicas de baixo peso molecular, ou íons metálicos, cuja função é ativar as enzimas a eles ligados, denominados cofatores.

As enzimas são substâncias sólidas, mas difíceis de serem cristalizadas devido à complexidade de suas estruturas químicas. Com algumas exceções, são solúveis em água e álcool diluído e, quando em solução, são precipitadas pela adição de sulfato de amônio, álcool ou ácido tricloroacético. São inativadas pelo calor e esta, talvez, seja a propriedade mais importante desses compostos em relação a tecnologia de alimentos.

As enzimas são classificadas em seis principais classes: oxidoredutases, transferases, hidrolases, liases, isomerases e ligases. Cada classe é dividida em subclasses que identificam a enzima em termos mais específicos e que são representadas pelo segundo algarismo. O terceiro algarismo define com exatidão o tipo de atividade enzimática e o quarto é o número da enzima dentro da sua subclasse. As enzimas podem também ser designadas por nomes que obedecem a uma sistemática e são constituídos de duas partes: uma indicando o substrato e a outra indicando a natureza da reação. Como essa nomenclatura também é complexa, as enzimas são geralmente identificadas por nomes triviais, já em uso há muito tempo. Por exemplo, a enzima classificada como 3.2.1.2 é denominada sistematicamente de a-14-glucanmalto-hidrólise, mais comumente conhecida como α-amilase.

As reações químicas que se processam no organismo são de diferentes tipos e necessitam de catalisadores diferentes. Essas reações são catalisadas por enzimas diferentes, fato que serviu de base para a classificação das enzimas, agrupando enzimas que catalisam as mesmas reações em uma mesma classe.

De acordo com a Comissão sobre Enzimas (E.C), da União Internacional dos Bioquímicos (I.U.B.), as enzimas podem ser divididas em seis grandes grupos.

Cada enzima é classificada com quatro números: o primeiro indica a reação que é catalisada (classe), o segundo a função envolvida, o terceiro fornece maiores detalhes sobre a reação catalisada, indicando ou o grupo receptor ou o substrato (a molécula cuja reação esta sendo catalisada), e o quarto é o número de série da enzima em sua subclasse.

ATIVIDADE ENZIMÁTICA

As enzimas apresentam a capacidade de reagir com determinados constituintes das células, denominados substratos, formando complexos, ou mesmo compostos com ligações covalentes; esse fato é denominado atividade biológica. Esta atividade é dependente da estrutura da proteína, ou seja, do número de cadeias peptídicas e arranjo dessas cadeias na molécula, da natureza do substrato e, ainda, se existir, da natureza do grupo prostético.

A determinação da atividade enzimática envolve a medida da velocidade de reação; uma unidade (U) de atividade é a quantidade de enzima que catalisa a transformação de 1 micromol de substrato ou a formação de 1 micromol de produto por minuto.

A atividade específica é expressa em termos de atividade por miligrama de proteína (U/mg).

A atividade enzimática pode ser medida com a enzima pura e em condições tais que permitam que a velocidade de reação seja máxima, significando que o substrato (S) deve estar em concentração elevada, de modo a garantir que toda a enzima (E) esteja transformada em um complexo ativado (ES). Neste caso, a velocidade (V) da reação, proporcional à concentração enzimática, será também proporcional ao complexo ES.

A velocidade das reações enzimáticas varia com fatores diversos, como concentração de enzima ou de substrato, temperatura e pH.

Ao comprovar, experimentalmente, a influência do pH na velocidade das reações enzimáticas se obtém curvas que indicam que as enzimas apresentam pH ótimo de atividade.

As enzimas possuem grupos químicos ionizáveis nas cadeias laterais de seus aminoácidos. Segundo o pH do meio, esses grupos podem ter carga elétrica positiva, negativa ou neutra. Como a conformação das proteínas depende, em parte, de suas cargas elétricas, haverá um pH no qual a conformação será a mais adequada para a atividade catalítica. Este é o chamado pH ótimo.

Ligeiras mudanças de pH podem provocar a desnaturação da proteína.

A temperatura também influi na atividade enzimática e o ponto ótimo

representa o máximo de atividade. Em temperaturas baixas, as enzimas encontram-se muito rígidas e quando se supera o valor considerável (maior do que 50°C), a atividade cai bruscamente, porque a enzima se desnatura.

Em geral, os aumentos de temperatura aceleram as reações químicas: a cada 10°C de aumento, a velocidade de reação se duplica. As reações catalisadas por enzimas seguem esta lei geral. Entretanto, sendo proteínas, a partir de determinada temperatura, começam a desnaturar-se pelo calor.

A temperatura na qual a atividade catalítica é máxima chama-se temperatura ótima. Acima dessa temperatura, o aumento de velocidade da reação devido a temperatura é compensado pela perda de atividade catalítica, devido a desnaturação térmica, e a atividade enzimática decresce rapidamente até anular-se.

Algumas enzimas, como a quimotripsina (enzima que hidrolisa proteína) ou a triosefosfato isomerase, são ativas sem necessitar da presença de outro fator. No entanto, quase um terço das enzimas conhecidas requer um componente não proteico para sua atividade, denominado cofator. Os cofatores podem ser íons metálicos, como o Fe++, Mg++, Mn++, Zn++, ou moléculas orgânicas, muitas delas derivadas de vitaminas do complexo B.

TIPOS E FUNÇÕES

As reações enzimáticas são muito importantes em alimentos, dependendo delas não só a formação de compostos altamente desejáveis, como também podem ter consequências indesejáveis. As reações enzimáticas ocorrem não somente no alimento natural, mas também durante o seu processamento e armazenamento.

As oxidoredutases, por exemplo, são enzimas relacionadas com as reações de óxido-redução em sistemas biológicos e, portanto, com os processos de respiração e fermentação. Estão incluídas nesta classe não somente as hidrogenases e oxidases, mas também as peroxidases, que usam o peróxido de hidrogênio como agente oxidante; as hidroxilases, que introduzem hidroxilas em moléculas insaturadas; e as oxigenases, que oxidam o substrato, a partir de oxigênio.

Já as transferases são enzimas que catalisam, como o próprio nome indica, a transferência de grupos de um composto para outro. A metilação em sistemas biológicos é realizada pelas transferases. A transalciolase e a transcetolase transferem glicol aldeído e 1,3-di-hidroacetona; a transferência de acetilas e alquilas é feita pelas acetiltransferases e alquiltransferases, assim como a transferência de resíduos de açúcar é feita pelas glicosiltransferases. Outras enzimas pertencentes a esta classe transferem nitratos e fosfatos.

As hidrolases incluem enzimas de baixa especificidade, como as esterases e as tioesterases, que hidrolisam um número muito grande de ésteres e tioésteres, embora com velocidades diferentes, e enzimas de especificidade muito alta, como as glicosilfosfatases (enzimas glicosílicas) e as peptidases (enzimas proteolíticas).

Pertencem também a classe das hidrolases, as fosfatases e as pirofosfatases.

As liases modificam o substrato, cindindo compostos ou removendo grupos da molécula de substrato. Pertencem a esta classe as descarboxilases; as cetoácidoliases, cuja principal função é a síntese de ácidos di- e tri-carboxílicos; e as hidroliases, que desidratam hidroxiaminoácidos, com posterior rearranjo da molécula e formação de novos compostos.

As isomerases são enzimas que catalisam reações de isomerização.

A racemização e a epimerização são causadas pelas racemases e epimerases; e as cistransisomerases mudam a configuração das duplas ligações. Pertencem ainda a classe das isomerases, as oxiredutases intramoleculares, que interconvertem aldoses em cetoses, oxidando uma hidroxila desses compostos e reduzindo a carbonila adjacente; e as transferases intramoleculares, também denominadas mutases, que apenas mudam a posição de determinados grupos da molécula de substrato.

As ligases são enzimas que causam a degradação da molécula de ATP, usando a energia liberada nesta reação para a síntese de novos compostos, unindo duas moléculas.

As esterases estão envolvidas na hidrólise de acoplamentos de éster de vários tipos. Os produtos formados são ácidos e álcool. Estas enzimas podem hidrolisar triglicérides e incluem várias lipases; por exemplo, fosfolipídios são hidrolisados através de fosfolipases e ésteres de colesterol são hidrolisados através de esterase de colesterol. As carboxilesterases são enzimas que hidrolisam triglicérides, como o tributirin. Podem ser distinguidas das lipases, porque hidrolisam substratos solúveis, considerando que as lipases só agem nas interfaces de lipídio de água de emulsões.

Assim, qualquer condição que resulta no aumento da área de superfície da interface do lipídio e água, aumenta a atividade da enzima. Esta é a razão pela qual a atividade da lipase é muito maior na homogeneização (não pasteurização) do leite do que no produto não homogeneizado. A maioria das enzimas lipolíticas é específica para o ácido ou o componente de álcool do substrato e, no caso de ésteres de alcoóis polihídricos, pode haver também uma especificidade posicional.

As lipases são produzidas através de microorganismos, como bactérias e moldes. Está presente em plantas e em animais, especialmente no pâncreas, e no leite. Podem causar desperdício de alimentos, porque os ácidos graxos livres provocam o ranço.

Em outros casos, a ação das lipases é desejável, sendo produzida intencionalmente. O limite entre o sabor e o sem sabor frequentemente apresenta uma gama muito estreita. Por exemplo, a hidrólise de gordura de leite, no leite, conduz a um desagradável "sem sabor", com muito baixa concentração de ácido graxo livre. Já a hidrólise de gordura de leite, no queijo, contribui para um sabor desejável. Esta diferença está relacionada ao uso no qual estes ácidos graxos são sobrepostos e a especificidade para grupos particulares de ácidos graxos de cada enzima.

Em sementes, as lipases podem hidrolisar gordura, a menos que as enzimas sejam destruídas pelo calor.

A atividade da lípase em trigo e outros grãos é altamente dependente do conteúdo de água. No trigo, por

exemplo, a atividade da lipase é cinco vezes, 15,1%, do que a 8,8% de umidade. A atividade lipolítica de aveias é mais alta do que a maioria dos outros grãos.

As amilases são as mais importantes enzimas do grupo de glicídios hidrolisados. Estas enzimas degradantes podem ser divididas em dois grupos: as enzimas denominadas de *branching*, que especificamente hidrolisam 1,6 acoplamentos entre cadeias; e as enzimas que quebram os 1,4 acoplamentos entre unidades de glicose das cadeias diretas. Este último grupo consiste em endoenzimas, que partem os laços ao acaso em pontos ao longo das cadeias, e exoenzimas, que partem pontos específicos nos fins de cadeia.

As α-amilases são enzimas distribuídas amplamente nos reinos animal e vegetal. Contém 1 grama-átomo de cálcio por mole. A α-amilase (α-1,4-glucan-4-glucanohidrolase) é uma endoenzima que hidrolisa o α-1,4-glucosídico, unida fortuitamente ao longo da cadeia. Esta ação conduz a uma rápida diminuição na viscosidade e pequena formação de monossacarídeos. Uma mistura de amilase e amilopectina é hidrolisada em uma mistura de dextrina, maltose, glicose e oligossacarídeos. A amilase é completamente hidrolisada por maltose, embora normalmente haja alguma maltotriose formada, que hidrolisa lentamente.

A β-amilase é uma exoenzima que remove unidades de maltose sucessivas de não redução das cadeias de glucídios. A ação é interrompida no ponto onde o acoplamento α-1,6-glucosídeo não pode ser quebrado pela α-amilase. As combinações resultantes são nomeadas de dextrina de limite.

A β-amilase só é encontrada em plantas mais altas. Malte de cevada, trigo, batata-doce e feijão de soja são boas fontes de β-amilase.

A glucoamilase é uma exoenzima que remove unidades de glicose de uma maneira sucessiva, sem redução da cadeia de substrato. O produto formado é apenas glicose e isso diferencia esta enzima da alfa e da beta-amilase. Além da hidrolização dos acoplamentos α-1,4, esta enzima também pode atacar os acoplamentos α-1,6, embora a uma taxa mais lenta. Isso significa que a goma pode ser completamente degradada à glicose.

A glucoamilase está presente em bactérias e moldes e é industrialmente usada na produção de xaropes de milho e glicose.

A β-galactosidade é uma enzima que catalisa a hidrólise de β-D-galactosides e α-L-arabinosides. É mais conhecida por sua ação de hidrolização em lactose, sendo também conhecida como lactase. É amplamente distribuída e encontrada em animais, bactérias, fermentos e plantas. A galactosidase ou lactase é encontrada em humanos nas células da membrana mucosa intestinal. Uma condição ampla em adultos não caucasianos, é caracterizada por uma ausência de lactase. Tais indivíduos têm intolerância à lactose, que é uma inabilidade para digerir leite corretamente. A presença de galactose inibe a hidrólise de lactose, através da lactase. A glicose não tem este efeito.

As enzimas pépticas são capazes

de degradar substâncias pépticas e ocorrem em plantas mais evoluídas e em microorganismos. Estas enzimas são comercialmente importantes no tratamento de sucos de frutas e bebidas, auxiliando na filtração e clarificação, e em proporcionar rendimentos crescentes. As enzimas também podem ser usadas para a produção de baixas pectinas de metoxil e ácidos galacturônicos.

A presença de enzimas pépticas em frutas e legumes pode resultar em amolecimento excessivo. Em tomate e suco de frutas, as enzimas pépticas podem causar separação de "nuvem".

Existem vários grupos de enzimas pépticas, inclusive, a pectinesterase, uma enzima que se agrupa e hidrolisa metoxil; a poligalacturonase, enzimas de polimerização; e a liase péptica.

A pectinesterase remove os grupos metoxil da pectina. A enzima se refere a vários outros nomes, incluindo pectase, pectina metoxilase, pectina metil esterase e pectina demetilase. A pectinesterase pode ser encontrada em bactérias, fungos e plantas superiores, em quantidades elevadas em frutas cítricas e tomates. A enzima é específica para ésteres de galacturonide e não ataca galacturonide metil ésteres em qualquer extensão. A poligalacturonase, também conhecida como pectinase, hidrolisa os acoplamentos de glicídios em substâncias pépticas.

As poligalacturonases podem ser divididas em endoenzimas, que agem dentro da molécula em acoplamentos de α-1,4 e, em exoenzimas, que catalisam a hidrólise de galacturônicos, moléculas ácidas de não redução no término da cadeia. Uma divisão adicional pode ser feita devido ao fato que alguma poligalacturonase age principalmente em substratos metilados (pectinas), considerando que outros agem em substratos com grupos de ácidos carboxílicos livres (ácidos pépticos). Estas enzimas são nomeadas galacturonases de polimetil e poligalacturonases, respectivamente. As endopoligalacturonases estão presentes em frutas e em fungos filamentosos, mas não em fermento ou bactéria. As exopoligalacturonases estão presentes em plantas (por exemplo, cenouras e pêssegos), fungos e bactérias.

APLICAÇÃO INDUSTRIAL

De forma geral, as principais aplicações das enzimas no setor alimentício são nas áreas de álcool e derivados; amidos e açúcares; cervejaria; laticínios e derivados; panificação e biscoitaria; vinicultura; e sucos de frutas.

ÁLCOOL E DERIVADOS

A produção de bebidas alcoólicas fermentadas a partir de matérias-primas ricas em amidos existe há muitos séculos. A escolha da matéria-prima varia em função das disponibilidades locais e dos hábitos alimentares de cada país.

Nos Estados Unidos, usa-se o milho e o centeio para fazer o uísque, enquanto na Inglaterra usa-se a cevada maltada para o uísque e os outros cereais para as bebidas espirituosas. Na Escandinávia a batata e, em escala menor os cereais, são usados para a produção da famosa *akvavit*. Na Alemanha, o *kornbranntwein* é feito de trigo, enquanto outros alcoóis têm por base a batata e outros cereais. No Extremo Oriente, o arroz serve para fazer o *sake*, enquanto a tequila mexicana é feita a partir do agave! Qualquer que seja a matéria-prima, o amido é o ingrediente básico. Ele é composto de uma longa cadeia de moléculas de glicose e estas devem ser quebradas em moléculas menores para que a levedura possa transformá-las em álcool. Este processo é efetuado por enzimas e consiste em duas etapas: a liquefação e a sacarificação.

Tradicionalmente, as enzimas estavam presentes no processo de fermentação pela simples adição de malte. Mas, desde o final dos anos 60, houve uma mudança drástica e, em muitos países, o malte foi totalmente substituído por enzimas industriais de origem microbiana, com grandes vantagens no processo.

Alguns litros de uma preparação enzimática podem substituir 100 kg de malte e são mais fáceis de manusear e estocar. Em termos de custo das matérias-primas pode haver uma economia de 20% a 30%, pois as enzimas industriais são fornecidas com uma qualidade constante, tornando totalmente previsível o processo completo de uma fermentação (o que não ocorre no uso do malte, pois sua qualidade pode variar de uma safra para a outra, assim como de uma remessa para outra).

As enzimas microbianas também apresentam uma performance melhor do que suas similares encontradas no malte. As amilases microbianas se comportam melhor em baixo pH, encontrado no mosto e, sendo extremamente termoestáveis, continuam atuando na liquefação dos amidos à temperatura de 100° C, quando as enzimas do malte já foram totalmente destruídas. Por estes motivos, é facilmente compreensível que as enzimas industriais tenham substituído o malte em muitas empresas tradicionais do setor de destilados.

AMIDOS E AÇÚCARES

No início do século XIX, o químico alemão Kirchoff descobriu que fervendo amido com um ácido, poderia convertê-lo em uma substância de gosto doce, que basicamente consistia em glicose. Kirchoff procurava um substituto para a cana-de-açúcar, em falta no mercado europeu, devido ao embargo decorrente das guerras napoleônicas. O produto descoberto por Kirchoff não resolveu o problema do açúcar, porque ele não era tão doce quanto o açúcar de cana ou de beterraba, assim como os rendimentos desta técnica não eram satisfatórios. Não obstante, desde então, os ácidos têm sido utilizados na transformação de amido em glicose. Esta técnica apresenta vários pontos negativos, como a formação de subprodutos indesejáveis, pouca flexibilidade (o produto final somente pode ser alterado, mudando o grau de hidrólise) e a necessidade de equipamentos capazes de resistir aos ácidos e a temperatura de 140°C a 150°C. Em contraste, as enzimas industriais oferecem facilidade e superioridade.

O índice DE (*dextrose equivalent*) é utilizado como indicador do grau de hidrólise de um xarope. O DE do amido é zero, enquanto que o da dextrose é 100. Os xaropes com DE de 35 a 43 ainda são produzidos a partir do processo de hidrólise ácida. Mas, no decorrer dos últimos 30 anos, com o desenvolvimento de novos tipos de enzimas, quase todos os processos de fabricação das hidrólises de amido são efetuadas por

meio de enzimas, principalmente, após o surgimento dos HFS (*High Fructose Syrupos*) nos anos 70, quando a técnica enzimática tornou possível a produção de xaropes tão doces quanto a sucrose. Os HFS contribuíram de maneira significativa para o desenvolvimento da indústria de amidos em vários países.

O tipo de enzima utilizado no processamento dos amidos determina os tipos de xaropes com diferentes composições e propriedades físicas, a serem utilizados em uma grande variedade de alimentos e bebidas, tais como refrigerantes, carnes, produtos de panificação e similares, sorvetes, molhos, alimentos infantis, frutas em conserva, doces e balas, etc.

O processo de conversão enzimática dos amidos compreende três fases distintas: a liquefação, a sacarificação e a isomerização. No processo de liquefação, uma α-amilase bacteriana leva à obtenção de maltodextrina, que contém diferentes oligossacarídeos e dextrinas, ligeiramente adocicadas e normalmente sujeitas a novo processo de conversão, chamado de sacarificação. Neste processo, a amiloglucosidase pode, teoricamente, hidrolisar completamente o amido, transformando-o em glicose.

Na prática, um pouco de maltose e isomaltose também são produzidos.

A enzima pululase pode ser usada para ajudar na sacarificação. Uma α-amilase fúngica pode ser utilizada para produzir xarope com maior conteúdo de maltose, o que significa maior fermentabilidade e maior grau de doçura. Um maior conteúdo de maltose também pode ser obtido pela utilização de β-amilase em combinação com uma pululase.

Uma parte da glicose pode ser isomerizada em frutose, duas vezes mais doce do que a glicose, utilizando-se uma glicose isomerase, com altos rendimentos e poucos subprodutos.

Os produtos desta isomerização tem,atualmente, grande importância no mercado, com aproximadamente 42% de frutose, 54% de glicose ou 55% de frutose e 41 % de glicose; neste último caso são chamados de HFS (HFCS), isoglicose ou açúcar de amido, dependendo da sua utilização final. São tão doces quanto o açúcar de cana ou de beterraba e possuem o mesmo conteúdo energético. Em muitos casos, permitem uma total substituição dos açúcares tradicionais sem que seja percebida nenhuma alteração no caráter do produto final. Nos Estados Unidos, por exemplo, os HFS já substituíram os açúcares usados na produção de bebidas, laticínios e derivados, produtos de panificação e alimentos enlatados.

CERVEJARIA

Tradicionalmente, a produção de cerveja começa a partir de uma mistura de malte de cevada e água quente, no processo de brassagem. Pode-se adicionar, também, matérias-primas auxiliares, como milho, aveia, trigo ou arroz. Este mosto é filtrado e colocado

em cubas de cobre e, após adição de lúpulo, é fervido por cerca de uma hora, quando liberará as substâncias aromáticas e o princípio amargo contido nas folhas. Após o resfriamento, feito em cubas de fermentação, a levedura (*Saccharomyces cerevisiae*, fermento cervejeiro) é adicionada. A fermentação industrial divide-se em principal e secundária. Na fermentação principal, o fermento cervejeiro desencadeia o verdadeiro processo de fermentação, que consiste na ação desses microorganismos naturais na transformação das moléculas de açúcar em álcool e CO_2, com a liberação de calorias. Inicia-se a produção da cerveja propriamente dita, que ocorre geralmente entre 3 e 7 dias, passando-se, então, para a fermentação secundária ou maturação.

O produto é transferido para tanques de maturação, onde a cerveja permanece por 12 a 20 dias, repousando a baixa temperatura, o que permite o seu amadurecimento, bem como desenvolve um sabor e aroma mais apurados. A cerveja bruta ainda passa por um processo de filtragem e clarificação para a eliminação dos resíduos em suspensão no líquido, dando-lhe o brilho e a translucidez exigidos pelo consumidor.

No processo tradicional, o malte é a matéria-prima, fornecendo amido, proteína e fonte de enzimas. Uma forma bastante onerosa de produzir enzimas. A substituição de parte deste malte, por enzimas industriais e cereais não maltados, como a própria cevada, pode levar a uma economia considerável. O processo pode ser controlado com maior precisão, devido a qualidade e a performance constante das enzimas industriais.

As principais aplicações para as enzimas industriais em cervejarias incluem a substituição do malte por cevada, maior liquefação das matérias-primas auxiliares, melhoria dos processos de filtração, cervejas com baixo teor de calorias e redução do tempo de maturação.

LATICÍNIOS E DERIVADOS

Esta área é, provavelmente, uma das mais antigas aplicações conhecidas para as enzimas.

O poeta épico grego Homero, considerado o autor da Ilíada e da Odisseia, datando de 800 a.C., já mencionava o uso das enzimas na produção de queijo. Nas suas obras encontram-se trechos mencionando que os estômagos de cordeiros e cabritos, os quais contém as mesmas enzimas que o estômago do vitelo, eram utilizados na produção de queijos. Essas enzimas de coagulação são conhecidas, hoje, como sendo a quimosina e a pepsina. A quimosina do vitelo é conhecida como a enzima ideal para a fabricação de queijo, devido a sua atividade de coagulação do leite altamente específica. A pepsina bovina não tem a mesma especificidade e, por isso, tem um tipo de atuação diferente quando utilizada no leite. É mais sensível às variações da qualidade do leite.

A quimosina produzida por fermen-

tação (protease de origem microbiana proveniente do fungo *Mucor miehei*) é uma alternativa com características semelhantes às da quimosina do vitelo.

Além do processo de coagulação, as enzimas podem ser utilizadas para ajudar na cura dos queijos, um processo lento e custoso.

O processo para acelerar a cura utilizando enzimas exógenas, proteases, lipases, ou decarboxilases é um problema complexo que esbarra em duas dúvidas básicas: a quantidade de enzimas e a técnica de adição. A adição destas enzimas em pequenas quantidades pode melhorar o gosto e acelerar a cura do coalho; por outro lado, o aumento da concentração em enzimas leva a defeitos na textura e no sabor e a uma maior amargura.

Nas técnicas de adição existem duas escolas. A adição ao leite é a mais fácil, porém leva a uma desestabilização das caseínas, gerando um mau rendimento de coagulação e, por outro lado, a baixa taxa de retenção de enzimas de cura no coalho pode não ser satisfatória do ponto de vista econômico.

A segunda escola, que é a favor da adição de enzimas de cura no coalho, encontra o problema que o fenômeno de difusão no coalho pode gerar desigualdades geográficas na hidrólise da massa. A solução ideal é o encapsulamento das enzimas e a utilização de lipossomas.

Se as proteases agem principalmente na textura, as lipases atuam essencialmente no gosto. O uso de lipases intensifica a lipólise durante a maturação de queijos. São muito usadas na fabricação dos queijos "azuis" e italianos (romano, parmesão, provolone). O gosto picante característico provém da presença de ácidos graxos de cadeia curta, liberados pelas lipases.

O uso de enzima também pode ser feito em tratamentos visando hidrolisar a lactose do leite e de seus subprodutos. Diversos problemas de ordem nutricional (deficiência em lactase intestinal em certos indivíduos), organolépticos (baixo poder adoçante da lactose) ou tecnológicos (baixa solubilidade desse açúcar em meio aquoso, sua propensão a cristalizar-se) podem ser solucionados pela sua hidrólise por meio de uma β-galactosidase. Os principais campos de atuação desta tecnologia são a produção de leite e derivados com baixo teor de lactose (para as populações deficientes em lactase ou para aumentar o gosto açucarado de certos produtos); a aceleração na fabricação de queijo e iogurtes pelo aumento do poder de fermentação e/ou modificação do pH; preparação de leite em pó para sorvetes e produtos cozidos; e produção de xaropes e edulcorantes para a indústria alimentícia.

PANIFICAÇÃO E BISCOITARIA

O pão é um dos alimentos básicos mais comuns e de menor custo. As mudanças no setor de panificação e a demanda cada vez maior por produtos naturais, fizeram com que as enzimas ganhassem uma grande importância na formulação de produtos de panificação.

A massa para pão é normalmente composta de farinha, água, fermento, sal e algum outro ingrediente, como açúcar e/ou gordura. A farinha é composta de glúten, amido, polissacarídeos não amiláceos, lipídios e traços de minerais. Tão logo a mistura de ingredientes forme a massa, o fermento começa a agir sobre os açúcares fermentáveis, transformando-os em álcool e dióxido de carbono e a massa começa a crescer.

O amido é o maior componente da farinha de trigo. O glúten é uma combinação de proteínas que formam uma ampla cadeia entrelaçada durante a formação da massa. É este entrelaçamento de cadeias que segura os gases dentro da massa durante o seu crescimento e o processo de assar no forno. A resistência desta cadeia entrelaçada é, então, muito importante para a qualidade final de qualquer pão, cuja massa cresce usando fermento.

As enzimas, como as hemicelulases ou xilanases, lipases e oxidases, podem

melhorar, direta ou indiretamente, a resistência da malha do glúten e, assim, melhorar a qualidade do produto final, ou seja, do pão.

As α-amilases transformam os amidos da farinha de trigo em pequenas dextrinas, permitindo ao fermento agir de maneira mais constante durante a fermentação da massa, seu crescimento e nos primeiros momentos no forno. O resultado é um produto final com maior volume e uma melhor textura do miolo. Os pequenos oligossacarídeos e açúcares, como a glicose e a maltose, produzidos por estas enzimas, aumentam as reações de Maillard, responsáveis pelo dourado da crosta e pelo aroma de pão quente.

Quando o pão não é mais fresco, ele perde a crocância e o miolo endurece. Esse fenômeno de pão amanhecido é responsável por perdas significativas, tanto para os consumidores quanto para os panificadores. O endurecimento da crosta e a perda de elasticidade do miolo se devem a uma mudança na estrutura dos amidos. Hoje, já se produzem enzimas que prolongam o tempo e a conservação do pão.

A farinha contém 2,5% a 3,5% de polissacarídeos não amiláceos, que são polímeros (na maior parte pentosanas), os quais desempenham m papel importante na qualidade do pão, devido a capacidade de absorção da água e interação com o glúten. A adição de certos tipos de pentosanase ou xilanase, em dosagens corretas, melhora a maleabilidade da massa, dando-lhe maior flexibilidade e mais estabilidade, com maior elasticidade durante o processo de assar, resultando um volume maior e melhor textura do miolo.

A farinha de trigo comum contém 1% a 1,5% de lipídios. Alguns deles, especialmente os não polares, como os triglicérides, são ligados ao glúten, impedindo sua funcionabilidade. A adição de lipases funcionais modifica os triglicérides, alterando, consequentemente, sua interação com o glúten. Consegue-se, assim, uma cadeia entrelaçada de glúten com maior resistência, propiciando uma massa mais estável, um maior volume do pão e uma melhor estrutura do miolo.

Os oxidantes químicos, como os bromatos, a azodicarbonamida e o ácido ascórbico, são amplamente utilizados para reforçar o glúten. As enzimas oxidativas, como a glicose oxidase, podem substituir, parcialmente, o uso destes oxidantes químicos, com melhoria da qualidade do produto final.

Cada uma das enzimas mencionadas acima tem o seu próprio substrato específico na massa feita de farinha de trigo. Por exemplo, as lipases os lipídios, as xilanases, os pentosanos, as amilases e os amidos. Como a interação desses substratos na massa e no pão é bastante complexa, a utilização de combinações de enzimas deve ser criteriosa. Muitas vezes, a dosagem excessiva de uma enzima pode ter efeito prejudicial sobre a massa ou o pão. Por exemplo, o excesso de α-amilase fúngica ou hemicelulase/xilanase pode resultar em uma massa demasiadamente grudenta para ser manuseada pelo padeiro ou a masseira. Assim, é benéfico para certos tipos de formulações usar uma combinação de enzimas com menor dosagem de α-amilases e xilanase e menor dosagem de lipases ou glicose oxidases para conseguir uma massa de consistência ótima, estável, com qualidade de pão ou usar α-amilase maltogênica em combinação com α-amilase fúngica e xilanase ou lipase

para assegurar um miolo macio em um pão de ótima qualidade em termos de estrutura de miolo, volume, etc.

VINICULTURA E SUCO DE FRUTAS

Todos os tipos de frutas e, especialmente, as bagas, com algum valor nutricional e processamento industrial significativo, contém em quantidades variáveis, uma substância chamada pectina, que age como uma cola, segurando as paredes celulares das frutas umas nas outras. Na fruta verde, a pectina está presente na forma insolúvel, chamada protopectina, responsável pela relativa dureza ou firmeza da fruta. Quando a fruta amadurece, a protopectina é parcialmente transformada na forma solúvel. Nesse estágio, quando a fruta for espremida, somente algumas das pectinas passam para o suco, tornando este mais viscoso, mas, ainda, com pouca cor e aroma; além do que sua clarificação e filtração são difíceis, dificultando o rendimento.

Essas dificuldades podem ser superadas pela adição de preparações enzimáticas especiais, antes da prensagem, no mosto, facilitando a futura extração, aumentando, consideravelmente, o rendimento em suco e o rendimento na prensagem. A completa despectinização pelo uso de enzimas pectinases propicia uma boa clarificação e filtração do suco, bem como maior estabilidade do concentrado de suco produzido. A adição de enzimas no mosto é, hoje, uma prática normal nas grandes empresas processadoras. A despectinização dos sucos após a prensagem é necessária para se obter um suco com baixa viscosidade.

Na produção de sucos concentrados a despectinização é obrigatória para evitar a geleificação durante a concentração ou a estocagem dos concentrados. O suco de maçã é um exemplo de suco que pode conter uma grande quantidade de amido, que pode ser tratado com a adição de uma enzima.

Para as frutas vermelhas, por exemplo, a cor é uma qualidade importante. A adição de preparações enzimáticas, como as celulases, podem levar a um melhor rendimento e melhor coloração do extrato. Nas frutas cítricas são utilizadas enzimas pectolíticas. No processo de lavagem da polpa usa-se uma enzima para reduzir a viscosidade e evitar geleificação das pectinas durante a fase de concentração. Outras enzimas pectolíticas são utilizadas na clarificação, na recuperação de óleos essenciais ou na produção de extrato, a partir da casca, com alto índice de turbidez, para aplicação na indústria de refrigerantes. Um outro tipo de aplicação permite a pelagem perfeita da fruta (para utilização em saladas de frutas em conserva, por exemplo) mediante a utilização de enzimas, substituindo, assim, um antigo processo utilizando soda cáustica.

Na indústria de sucos de frutas, a fase de pasteurização desativa as enzimas pouco após elas terem efetuado o

seu trabalho. Na fabricação de vinhos, tal processo não existe e, consequentemente, a atividade enzimática pode manter-se durante um longo período de tempo. Nas vinícolas, um dos maiores desafios é a extração do maior volume possível de componentes aromáticos.

No vinho tinto, como no caso das frutas vermelhas, a extração da cor também é de grande importância. Um problema específico dos vitivinicultores reside na extrema dificuldade de clarificar e filtrar vinhos produzidos a partir de cachos atacados pelo fungo *Botrytis cinerea*, que produz beta-glucanos (polímeros de glicose com alto peso molecular), que passam para o vinho estas macro moléculas, prejudicando a clarificação e entupindo rapidamente os filtros. Este inconveniente é facilmente removido pela adição ao vinho de uma enzima beta-glucanase altamente específica.

Já outras enzimas ajudam a liberação de aromas. É o caso das glicosidases, que hidrolisam os terpenil glicosídeos. Os terpenos liberados são um dos importantes componentes do famoso *bouquet*.

PREPARAÇÕES ENZIMÁTICAS COMERCIAIS

A maioria das preparações enzimáticas comerciais contém não apenas a enzima específica, cuja atividade é impressa no rótulo, mas também outras enzimas produzidas pelo mesmo material de origem/organismo. O usuário da enzima deve estar sempre atento a este fator na especificação do produto enzimático, para evitar efeitos colaterais em alimentos complexos (por exemplo, hidrólise do amido por uma preparação enzimática adquirida para a função de protease). Mesmo que a aplicação seja para um componente isolado de alimento, como proteína de soro de leite, uma preparação enzimática heterogênea pode passar uma atividade enzimática inesperada e indesejável para o cliente que adquire o produto, a menos que medidas sejam tomadas para inativa-la após o processamento.

Assim, o relacionamento enzima/substrato é mais complexo e menos previsível em ambientes de reações alimentícias, uma vez que os materiais alimentícios não são substâncias químicas puras, mas sim estruturas complexas e/ou misturas mal definidas de potenciais substratos e inibidores.

A quantidade de enzima necessária para converter uma determinada quantidade de substrato é medida em "Unidades de Enzima". Em sistemas simples, a *International Union of Biochemistry Unit* define (U) como a quantidade de enzimas que irá catalisar a transformação de um micromole de substrato por minuto, sob condições definidas. A unidade SI (Sistema Internacional de Unidades, do francês, *Système International d'Unités*) para atividade da enzima é o katal (kat), definida como a quantidade de enzima que causa a transformação de um milimole de substrato por segundo sob determinadas condições. O katal não é usado para demonstrar a taxa de reações e é expresso em mol/s.

Um substrato, que é definido em termos de tecnologia de alimentos (por exemplo, proteína fúngica, extratos de proteínas vegetais, músculo animal, amido de milho, gordura do leite) passa a ser heterogêneo quanto se trata de enzimas, e as definições unitárias acima são de pouca utilidade na elaboração de um processo. Por exemplo, o amido de milho é constituído por polímeros de glicose de pesos moleculares infinitamente variáveis, com diferenças enormes de lote para lote, tornando impossível fixar uma dosagem de enzima padrão para alcançar uma especificação acordada para um produto da hidrólise do amido como ingrediente. Na verdade, seria impossível definir uma unidade de enzima em relação a esse substrato, simplesmente porque um milimole ou micromole de um polímero de peso molecular misto não pode ser definido. Esses fatores significam que não há nenhuma forma simples e consistente para definir ou pré-determinar o quanto adicionar da enzima para a qual a quantidade de matéria-prima no processamento de alimentos.

Na prática, os fabricantes de enzimas fornecem informações essenciais para os seus clientes através da definição de unidades em termos da função tecnológica da enzima. Isso não só permite ao usuário definir e controlar o processo de hidrólise enzimática em escala industrial, como também estabelece a base para relacionar o preço da enzima com o valor do produto produzido, e permite comparar a produtividade das enzimas de diferentes fornecedores.

LOS TIPOS DE ENZIMAS Y SU APLICACIÓN EN ALIMENTOS

Químicamente, las enzimas son proteínas con una estructura química especial, que contiene un centro activo, llamado apoenzima y, a veces, un grupo no proteico, denominado coenzima. Toda la molécula (apoenzima y coenzima) recibe el nombre de holoenzimas.

Las enzimas son sustancias sólidas, pero difícil ser cristalizo debido a la complejidad de sus estructuras químicas. Con poças excepciones, que son solubles en agua y alcohol diluído y, cuando está en solución se precipitan mediante la adición de sulfato de amonio, alcohol o ácido tricloroacético. Son inactivadas por calor y esta es quizás la propiedad más importante de estos compuestos en relación a la tecnología de los alimentos.

Las enzimas se clasifican en seis clases principales: oxidorreductasas, transferasas, hidrolasas, liasa, isomerasa y ligasas. Cada clase se divide en subclases para identificar la enzima en términos más específicos, que están representados por el segundo dígito. El tercer dígito define con precisión el tipo de actividad enzimática y el cuarto es el número de la enzima dentro de la subclase. Las enzimas también pueden ser designadas por los nombres que van a seguir un procedimiento sistemático y constan de dos partes: una que indica el sustrato y el outro que indica la naturaleza de la reacción. Como esta nomenclatura también es compleja, las enzimas se identifican generalmente por nombres triviales, ya en uso por un largo tiempo. Por ejemplo, la enzima clasificada como 3.2.1.2 se denomina sistemáticamente de a-14-glucanmalto-hidrólisis, más comúnmente conocida como α-amilasa.

Las reacciones químicas que se producen en el organismo son de tipos diferentes y quieren diferentes catalizadores. Estas reacciones son catalizadas por enzimas diferentes, hecho que sirvió como base para la clasificación de las enzimas, la agrupación de las enzimas que catalizan las mismas reacciones en la misma clase.

Las enzimas tienen la capacidad de reaccionar con ciertos componentes de las células, llamado sustrato, formando complejos o compuestos con enlaces covalentes; este hecho se llama actividad biológica. Esta actividad depende de la estructura de proteínas, es decir, el número de cadenas de péptidos y disposición de las cadenas de la molécula, la naturaleza del sustrato y, aún así, si existe, la naturaleza del grupo prostérico.

La velocidad de reacción enzimática varía em función de varios factores, tales como la concentración de la enzima o del sustrato, temperatura y pH.

Las reacciones enzimáticas son muy importantes en alimentos, dependiendo de ellas no sólo la formación de compuestos

altamente deseables, como también puede tener consecuencias indeseables. Las reacciones enzimáticas se producen no sólo en alimentos naturales, sino también durante su procesamiento y almacenamiento.

Las oxidorreductasas, por ejemplo, son enzimas relacionadas con las reacciones de oxidación-reducción en los sistemas biológicos y por lo tanto con los procesos de respiración y fermentación.

Ya el transferasas son enzimas que catalizan, como su nombre lo indica, la tranferencia de grupos de un compuesto a otro.

Las hidrolasas incluyen enzimas de baja especificidad, como las esterasas y tioesterases, que hidroliza un número muy grande de ésteres y tioésteres, aunque con diferentes velocidades, y enzimas de alta especificidad, como el glicosilfosfatases (enzimas glicosílicas) y la peptidasa (enzimas proteolíticas).

Las liasas modifican el substrato, la escisión de compuestos o eliminación de los grupos de moléculas sustrato.

Las isomerasas son enzimas que catalizan reacciones de isomerización.

La racemización y epimerización son causados por racemasas y epimerasas; y cistransisomerases cambiar la configuración de los dobles enlaces.

Las ligasas son enzimas que provocan la degradación de la molécula de ATP, utilizando la energia liberada en esta reacción para la sístesis de nuevos compuestos, uniendo dos moléculas.

Las esterasas están implicadas en la hidrólisis de acoplamientos de éster de diversos tipos.

Las lipasas son producidas por microorganismos, como bacterias y mohos. Está presente en las plantas y los animales, especialmente en el pâncreas y en la leche. Puede causar el desperdicio de alimentos, porque los ácidos grasos libres causan rancidez.

Las amilasas son las enzimas que degradan y el grupo más importante de glúcidos hidrolizados.

La glucoamilasa es una exoenzima que elimina unidades de glucosa de una manera sucesiva, sin reducir la cadena de sustrato.

Enzimas pépticas son capaces de degradar sustancias pépticas y ocurren en las plantas más desarrolladas y en los microorganismos. Estas enzimas son comercialmente importantes en el tratamiento de zumos de fruta y bebidas, ayudando en la filtración y clarificación, y proporcionar ingresos crecientes. Las enzimas también pueden ser utilizados para producir pectina de bajo metoxilo y ácidos galacturónico.

En general, las principales aplicaciones de las enzimas en el sector de los alimentos se encuentran en las áreas de alcohol y derivados; almidones y azúcares; cervecería; lácteos y derivados; panificación y bizcochería; viticultura; y zumos de fruta.

La mayoría de los preparados enzimáticos comerciales no sólo contiene la enzima específica, cuya actividad está impreso en la etiqueta, pero también otras enzimas producidas por el mismo material de origen/cuerpo.

El usuário de la enzima siempre deben estar atentos a este factor en la especificación del producto enzimático, para evitar los efectos secundários en el alimento complejo (por ejemplo, hidrólisis de almidón por un preparado enzimático adquiridos para la función de la proteasa).

Incluso si la solicitud es para un componente aislado de los alimentos, tales como la proteína de suero, un preparado enzimático heterogêneo pueden pasar de una actividad enzimática inesperados e indeseables para el cliente que compra el producto, a menos que se adopten medidas para inactivo después de su procesamiento. Así la relación enzima/sustrato es más complejo y menos previsible en entornos de reacciones en entornos de alimentos, desde los materiales los productos alimenticios no son sustancias químicas puras, pero las estructuras complejas y/o mal definidas, las mezclas de sustratos potenciales y inhibidores.

En la práctica, los fabricantes de enzimas proporcionan información esencial para sus clientes a través de la definición de unidades en términos de la función tecnológica de la enzima. Esto no sólo permite al usuário definir y controlar el proceso de hidrólisis enzimática a escala industrial, como también sienta las bases para relacionar el precio de la enzima con el valor del producto producido, y le permite comparar la productividad de las enzimas de diferentes proveedores.

MERCOAGRO

EDIÇÃO **2016** | 11ª FEIRA INTERNACIONAL DE NEGÓCIOS, PROCESSAMENTO E INDUSTRIALIZAÇÃO DA CARNE

HÁ 20 ANOS A MAIOR DO BRASIL

CONECTANDO INDÚSTRIAS E TECNOLOGIAS MUNDIAIS NA CAPITAL NACIONAL DA AGROINDÚSTRIA

CHAPECÓ-SC
Parque Trancredo Neves

13 a 16 DE SETEMBRO 2016

Na 11ª edição da Mercoagro você vai encontrar grandes novidades. Além das maiores soluções e inovações em processamento e industrialização da carne, a edição 2016 marca um novo momento da feira. Um momento de crescimento e de retorno à sua essência. Àquela que sempre foi a sua vocação: conectar pessoas, países e continentes através de negócios, soluções, conhecimentos e relacionamentos. Tudo isso em um dos maiores polos agroindustriais do mundo, a cidade de Chapecó-SC. Venha para esta edição histórica. **Participar é, sempre, o melhor negócio.**

Realização: ACIC chapecó

Apoio: FACISC Federação das Associações Empresariais de Santa Catarina

Comercialização: ENTERPRISE Feiras & Eventos

Apoio de Mídia: FRIGONEWS

MERCOAGRO.COM.BR | ACICHAPECO.COM.BR | 49 33212800