

# Capítulo 1

---

## Tecnologia Enzimática | Conceitos Básicos, Aplicações e Mercado

*Ana Elizabeth Cavalcante Fai Buarque de Gusmão •  
Cristiano José de Andrade • Denise Maria Pinheiro (in memoriam)*

- ▶ Introdução, 2
- ▶ Classificação e nomenclatura, 5
- ▶ Mercado econômico de enzimas e oportunidades, 11
- ▶ Oportunidades e aplicações das enzimas na indústria de alimentos, 13
- ▶ Considerações finais, 17
- ▶ Bibliografia, 19

## Introdução

.....  
 A tecnologia enzimática é uma ferramenta interdisciplinar reconhecida como um componente importante para o crescimento industrial sustentável.

.....  
 A expansão da utilização de enzimas nos diversos segmentos – como nas indústrias (química, farmacêutica e de alimentos), na agricultura, no setor energético, na saúde humana e animal – justifica o interesse e a necessidade de estudos sobre o tema.

A tecnologia enzimática é uma ferramenta interdisciplinar reconhecida pela Organização de Cooperação Econômica e Desenvolvimento (OECD, do inglês *Organisation for Economic Co-operation and Development*) como um componente importante para o crescimento industrial sustentável (*concept of green chemistry*). As enzimas são empregadas em uma vasta gama de segmentos, incluindo as indústrias química, farmacêutica e de alimentos, a agricultura, o setor energético, a saúde humana e animal, entre outros. A tecnologia enzimática cumpre um papel estratégico para o desenvolvimento de processos industriais sustentáveis, contribuindo para atender aos desafios de proteção socioambiental e de mudança climática global. Esse cenário aponta para uma provável expansão da utilização de enzimas nos diversos segmentos industriais nos próximos anos e justifica o interesse e a necessidade de estudos sobre este tema. A Tabela 1.1 contém uma série de exemplos da ampla e crescente utilização de enzimas em vários setores industriais.

**Tabela 1.1** Tecnologia enzimática nas indústrias – exemplos.

Indústria	Item
Agropecuária	Aditivos de ração
	Produção de enzimas heterólogas
Alimentos	Enzimas usadas na preparação de alimentos
	Nutracêuticos; ingredientes
Detergentes	Novas enzimas de detergentes
Energia	Álcool combustível; biodiesel
Farmacêutica	Compostos quirais
	Engenharia de glicoproteínas
	Enzimas como alvo de substâncias farmacêuticas
Materiais	Papel
	Polímeros
	Tecidos
	Tratamento de couro
Química	Biocatálise
	Compostos orgânicos

Enzimas podem ser de origem vegetal, animal ou microbiana, porém sua obtenção por rota microbiana constitui a fonte mais interessante de enzimas industriais.

A grande heterogeneidade de aplicações está diretamente relacionada à diversidade funcional das enzimas, que podem ser de origem vegetal, animal ou microbiana. No entanto, a obtenção de enzimas por rota microbiana constitui a fonte mais interessante de enzimas industriais, por diversas razões, tais como: possibilidade de produção em larga escala com elevado grau de pureza; obtenção de alto rendimento e alta produtividade a partir da otimização das condições dos processos fermentativos; independência de condições climáticas (sazonalidade) e gasto reduzido no uso de matérias-primas – uma vez que é possível a utilização de subprodutos como substrato para os processos fermentativos, sobretudo, resíduos agroindustriais. Adicionalmente, os avanços de ferramentas modernas de biologia molecular e engenharia genética, bioinformática, expressão heteróloga de proteínas, entre outras, têm contribuído significativamente para o aumento da produtividade de enzimas microbianas, resultando em processos mais facilmente escalonáveis, com maior rendimento, alta atividade enzimática e características particulares de atividade em fatores extremos de pH e temperatura – compatíveis com processos industriais específicos. As recentes ferramentas de metabolômica, proteômica, metagenômica, além de outras “ômicas”, têm abordado questões relacionadas ao metabolismo microbiano, permitindo a compreensão da biossíntese de enzimas de forma mais específica. Além disso, técnicas avançadas de imobilização enzimática também têm permitido aumentar a vida útil e viabilizar o reciclo desses biocatalisadores, tornando os processos enzimáticos economicamente mais viáveis. Algumas aplicações enzimáticas estão listadas na Tabela 1.2.

Destaca-se que as indústrias de alimentos, de ração, de papel, de couro, têxtil e a agricultura são bem apropriadas à tecnologia enzimática, uma vez que seus respectivos produtos consistem em biomoléculas, que são produzidas, degradadas ou modificadas por processos enzimáticos (Figura 1.1).

Atualmente, enzimas microbianas vêm sendo obtidas por processos mais facilmente escalonáveis, com maior rendimento, apresentam alta atividade enzimática e são adaptadas a extremos de pH e temperatura – compatíveis com processos industriais específicos.

Técnicas avançadas de imobilização enzimática têm permitido aumentar a vida útil e viabilizar o reciclo dos biocatalisadores, tornando os processos enzimáticos economicamente mais viáveis.

Indústrias de alimentos, de ração, de papel, de couro, têxtil e a agricultura são atividades apropriadas à tecnologia enzimática, pois seus produtos consistem em biomoléculas que são produzidas, degradadas ou modificadas por processos enzimáticos.

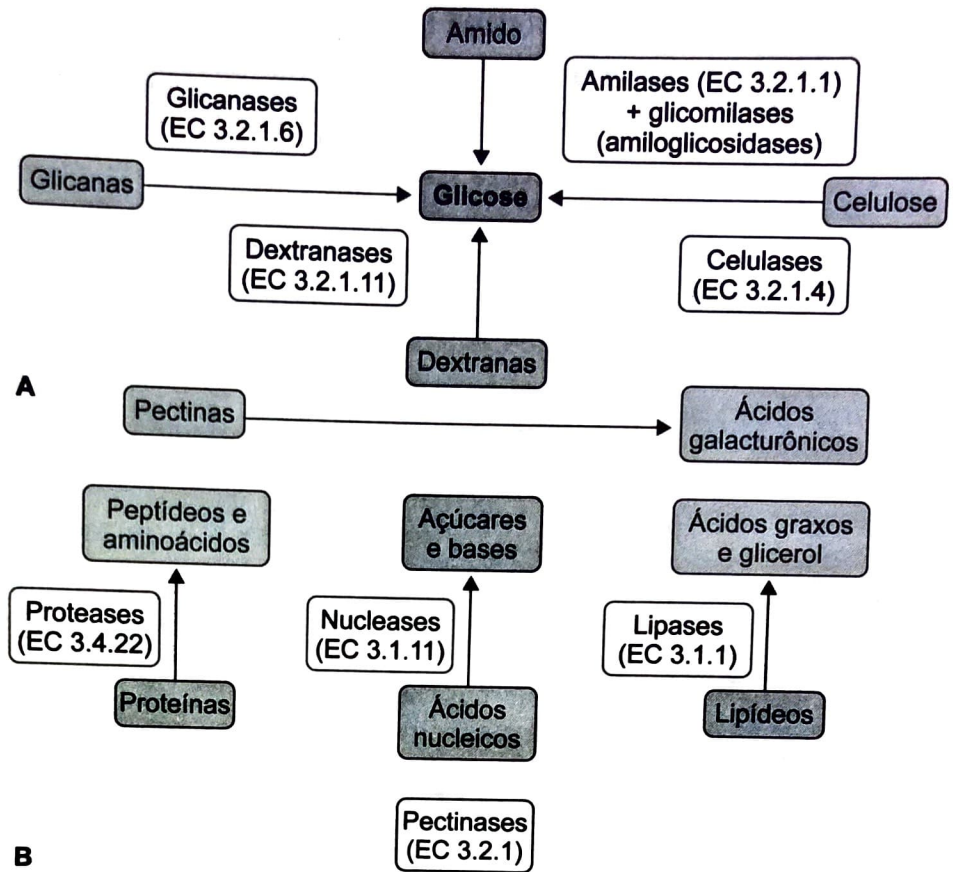
**Tabela 1.2** Recentes avanços na tecnologia enzimática – impacto nas aplicações.

Tecnologia	Desenvolvimento
Adaptação de tecnologias a novas legislações	Síntese de isômeros específicos (composto ativo) em fármacos Organismos modificados geneticamente Redução da poluição ambiental
Biocatálise combinatória	Polimerização enzimática Glicosilação de compostos bioativos
Bioeletrocatalise	Biossensores, biorreatores e células de biocombustível
Determinação da estrutura proteica	Determinação estrutural e da localização de sítios ativo e alostéricos
Engenharia de bioprocessos	Resolução cinética dinâmica Biocatálise industrial Técnicas de proteção de grupos por processos enzimáticos
Engenharia enzimática	Evolução direta para aumentar a enantioseletividade Biocatálise Novas atividades enzimáticas por modificação química Enzimas artificiais
Engenharia metabólica	Metabólitos como substâncias químicas industriais
Genoma funcional	Descoberta de enzimas Genoma ligado à atividade enzimática Genoma de enzimas baseado na descoberta de substâncias ativas
Métodos de processamento	Descoberta de enzimas e aumento de sua atividade Enzimas imobilizadas Métodos de <i>screening</i> Análise global das atividades de proteínas
Produção e purificação de proteínas	Fermentação sólida contínua Purificação de proteínas Novos desenvolvimentos em biosseparação

Elaborada com base em Van Beilen e Li, 2002.

As enzimas são catalisadores biológicos que apresentam características de atuação extremamente importantes, uma vez que:

- Podem atuar em condições amenas de reação (temperatura, pressão e pH neutro)



**Figura 1.1** Macromoléculas hidrolisadas por enzimas utilizadas na indústria de alimentos. A. Polissacarídeos (carboidratos). B. Proteínas, lipídeos e ácidos nucleicos. Adaptada de Wiseman *et al.*, 1998.

- Têm alta especificidade (regiosseletividade, seletividade de substrato, seletividade de grupo funcional e estereosseletividade)
- Proporcionam um ambiente reacional não agressivo ao meio ambiente
- Apresentam alta eficiência catalítica.

Essas características são importantes quando comparadas aos métodos químicos de síntese orgânica e de processos industriais não enzimáticos. Considerando tudo isso, não surpreende que a quantidade de aplicações comerciais de enzimas venha crescendo a cada ano.

### Classificação e nomenclatura

Embora existam diversas propostas de sistematização de enzimas com base na natureza química do substrato (carboidratos, proteínas, nucleotídios) ou na estrutura química

Como catalisadores biológicos, enzimas apresentam as seguintes características importantes: atuam em condições amenas de reação; têm alta especificidade; são ambientalmente amigáveis, com alta eficiência catalítica.

da enzima (flavoproteínas, hemoproteínas), as formas mais comuns para designar as enzimas consistem em descrever a classificação (p. ex., EC 1.2.1.3) e/ou nomear o substrato e a natureza da reação (p. ex., aldeído desidrogenase).

Em 1955, durante o International Congress of Biochemistry realizado em Bruxelas (Bélgica), criou-se a primeira Enzyme Commission (EC), que, por sua vez, recomendou em sua primeira publicação, de 1961, duas nomenclaturas de enzimas, uma sistemática (de acordo com regras claras e definidas) e outra trivial (mais subjetiva e de maior conveniência – nomes que já vinham sendo usados). Atualmente, a EC é organizada pela International Union of Biochemistry and Molecular Biology (IUBMB, 2018), sendo que a versão impressa mais recente da sistematização de enzimas data de 1992 (NC-IUBMB, 2018) e vem sendo atualizada por meio de suplementos publicados *on-line* (em 2018 foi aprovado o suplemento 24).<sup>1</sup> Além disso, a própria EC disponibiliza as instruções para a sistematização de novas enzimas, visto que uma sutil alteração na sequência de aminoácidos pode ser suficiente para alterar a atividade ou a especificidade de uma enzima.

Há três princípios gerais para a designação de enzimas: (a) a nomenclatura de enzimas, especialmente aquelas com o sufixo “-ase”, deve ser utilizada apenas para entidades catalíticas únicas, ou seja, não deve ser aplicada a sistemas contendo mais de um agente catalítico; (b) a classificação e a nomenclatura das enzimas deve estar relacionada à reação de catálise; e (c) as enzimas devem ser agrupadas em função da reação catalítica e do substrato da reação, de modo a fornecer uma base para o nome individual de cada enzima. Esses princípios também devem ser empregados para classificação e codificação numérica das enzimas.

Os códigos numéricos da sistematização de enzimas usam o prefixo EC e contêm 4 elementos (algarismos) que indicam a classe, a subclasse, a subsubclasse e o número de série.

- O primeiro elemento indica a classe da enzima; dentre as seis principais divisões

.....  
A Enzyme Commission (EC) recomenda duas formas de nomenclatura de enzimas: uma sistemática e outra trivial – composta por nomes que já vinham sendo usados.

<sup>1</sup>Disponível em <<http://www.sbcs.org.uk/iubmb/>>

- O segundo elemento indica a subclasse
- O terceiro elemento indica a subsubclasse
- O quarto elemento indica o número de série (número sequencial) da enzima em sua subsubclasse.

Logo, o primeiro elemento será definido de acordo com uma das 6 seguintes classes:

- Classe 1 – *oxidoreductases*: enzimas que catalisam reações de oxidorredução; oxidam e reduzem substratos pela transferência de hidrogênio, oxigênio ou elétrons
- Classe 2 – *transferases*: enzimas que catalisam a transferência de grupos, por exemplo, metil ou glicosil, de uma molécula doadora para uma molécula aceptora
- Classe 3 – *hidrolases*: enzimas que catalisam a clivagem hidrolítica de C-O, C-N, C-C e outras ligações covalentes
- Classe 4 – *liases*: enzimas que catalisam a clivagem de C-C, C-O, C-N e outras ligações covalentes por eliminação, levando assim à formação de ligações duplas e/ou de estruturas cíclicas
- Classe 5 – *isomerases*: enzimas que catalisam alterações (rearranjos) geométricas ou estruturais em uma molécula, isto é, promovem a isomerização do substrato. De acordo com o tipo de isomeria catalisada, essas enzimas podem ser denominadas de racemases, epimerases, *cis-trans*-isomerases, tautomerases, mutases ou cicloisomerases
- Classe 6 – *ligases*: enzimas que catalisam a ligação (união) de duas moléculas pela formação de ligações covalentes. Essa catálise é vinculada à hidrólise da ligação fosfato em moléculas como adenosina trifosfato (ATP) ou guanosina trifosfato (GTP).

Nas Tabelas 1.3 a 1.8 encontra-se, de forma mais detalhada, a classificação das enzimas segundo suas subclasses (segundo elemento).

As enzimas são divididas em 6 classes, de acordo com as reações que catalisam: oxidoreductases, transferases, hidrolases, liases, isomerases e ligases.

Tabela 1.3 Subclasse das oxidoredutases – classe EC 1.

EC 1.1	Atua sobre grupos doadores de CH-OH (álcool → aldeído)
EC 1.2	Atua sobre grupos doadores de aldeído ou oxo (aldeído aromático → aromático)
EC 1.3	Atua em grupos doadores de CH-CH (5,6-diaminouracila → uracila)
EC 1.4	Atua em grupos doadores CH-NH <sub>2</sub> (alanina → piruvato)
EC 1.5	Atua em grupos doadores de CH-NH (L-prolina → ácido 1-pirrolino-5-carboxílico)
EC 1.6	Atua em NADH ou NADPH (NADPH → NADP <sup>+</sup> )
EC 1.7	Atua em outros compostos nitrogenados como doador (nitrito → nitrato)
EC 1.8	Atua em grupos sulfurados (enxofre) como doador (sulfato de hidrogênio → sulfito)
EC 1.9	Atua no grupo doadores heme (ferrocitocromo c → ferricitocromo c)
EC 1.10	Atua em difenóis e substâncias relacionadas (catecol → benzoquinona)
EC 1.11	Atua em peróxido como acceptor (ácido graxo + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> → ácido graxo hidroxilado)
EC 1.12	Atua em hidrogênio como doador (H <sup>+</sup> + NAD <sup>+</sup> → NADH)
EC 1.13	Atua em doadores singulares (não emparelhados) com a incorporação de oxigênio molecular (p. ex., catecol + O <sub>2</sub> → <i>cis, cis</i> -muconato)
EC 1.14	Atua em doadores emparelhados com a incorporação ou redução de oxigênio molecular (timina + 2-oxoglutarato + O <sub>2</sub> → 5-hidroxiacetiluracil + succinato)
EC 1.15	Atua como acceptor em superóxidos (2 superóxido + 2 H <sup>+</sup> → O <sub>2</sub> + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )
EC 1.16	Oxida íons metálicos (Hg + NADP <sup>+</sup> + H <sup>+</sup> → Hg <sup>2+</sup> + NADPH)
EC 1.17	Atua em grupos CH ou CH <sub>2</sub> (formiato + NAD <sup>+</sup> → CO <sub>2</sub> + NADH)
EC 1.18	Atua em proteínas ferro-enxofre como doador (rubredoxina reduzida → rubredoxina oxidada)
EC 1.19	Atua na redução de flavodoxina como doador (flavodoxina reduzida → flavodoxina oxidada)
EC 1.20	Atua em doadores de fósforo e arsênio (ácido fosfônico → fosfato)
EC 1.21	Atua em reações de X-H + Y-H = X-Y (acetilfosfato + dissulfureto de tioredoxina NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> + H <sub>2</sub> O → glicina + fosfato + tioredoxina)
EC 1.22	Atua em halogênios como doador (NAD <sup>+</sup> ou NADP <sup>+</sup> , como acceptor)
EC 1.23	Redução de grupos C-O-C como acceptor (NADH ou NADPH, como doador)
EC 1.97	Outras oxidoredutases (acceptor reduzido + clorato → acceptor + clorito)



**Tabela 1.4** Subclasse das transferases – classe EC 2.

EC 2.1	Transferência de um grupo carbônico (arginina + glicina → ornitina + guanidinoacetato)
EC 2.2	Transferência de grupos aldeídos ou cetônicos (piruvato → acetolactato)
EC 2.3	Aciltransferases (acetil-CoA + L-glutamato → CoA + N-acetil- L-glutamato)
EC 2.4	Glicosiltransferases (2 glicose fosfatada → maltose + 2 fosfato)
EC 2.5	Transferem grupos alquila ou arila, outros grupos ≠ metil (RX + glutatona → HX + R-S-glutatona)
EC 2.6	Transferência de grupos nitrogenados (aspartato + oxoglutarato → oxaloacetato + glutamato)
EC 2.7	Transferência de grupos contendo fósforo (ATP + glicose → ADP + glicose fosfatada)
EC 2.8	Transferência de grupos contendo enxofre (tiosulfato + cianeto → sulfito + tiocianato)
EC 2.9	Transferência de grupos contendo selênio (L-seril-tRNA + selenofosfato → L-selenocisteinil-tRNA + fosfato)
EC 2.10	Transferência de grupos contendo molibdênio ou tungstênio (adenilil-molibdopterina + molibdato → cofator de molibdeno + AMP + H <sub>2</sub> O)

Adaptada de BNC, 2018.

**Tabela 1.5** Subclasse das hidrolases – classe EC 3.

EC 3.1	Atua em ligações éster (éster carboxílico → álcool + carboxilato)
EC 3.2	Glicosilases (amido → maltose)
EC 3.3	Atua em ligações éter (s-adenosil-homocisteína → homocisteína + adenosina)
EC 3.4	Atua em ligações peptídicas (peptidases)
EC 3.5	Atua em ligações carbono-nitrogênio e outras ligações ≠ ligações peptídicas (asparagina → aspartato)
EC 3.6	Atua em ligações anidridos contendo fósforo (difosfato → 2 fosfato)
EC 3.7	Atua em ligações carbono-carbono (oxaloacetato → oxalato + acetato)
EC 3.8	Atua em ligações de halogênios (bromo-cloro-metano → formaldeído + brometo + cloreto)
EC 3.9	Atua em ligações fósforo-nitrogênio (creatina fosfatada → creatina + fosfato)
EC 3.10	Atua em ligações enxofre-nitrogênio (sulfo-glicosamina → glicosamina + sulfato)
EC 3.11	Atua em ligações de carbono-fósforo (fosfonoacetaldeído + H <sub>2</sub> O) → acetaldeído + fosfato)
EC 3.12	Atua em ligações enxofre-enxofre (tritionato → tiosulfato + sulfato)
EC 3.13	Atua em ligações de carbono-enxofre (dissulfeto de carbono + H <sub>2</sub> O → sulfeto de hidrogênio + CO <sub>2</sub> )

Adaptada de BNC, 2018.

**Tabela 1.6** Subclasse das liases – classe EC 4.

EC 4.1	Ligação carbono-carbono (oxo-carboxilato $\rightarrow$ aldeído)
EC 4.2	Ligação carbono-oxigênio ( $\text{H}_2\text{CO}_3 \rightarrow \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$ )
EC 4.3	Ligação carbono-nitrogênio (aspartato $\rightarrow$ fumarato + $\text{NH}_3$ )
EC 4.4	Ligação carbono-enxofre (cisteína + sulfito $\rightarrow$ cisteato + sulfeto de hidrogênio)
EC 4.5	Ligação carbono-halogênios (alanina clorada $\rightarrow$ piruvato + cloreto + $\text{NH}_3$ )
EC 4.6	Ligação fósforo-oxigênio (ATP $\rightarrow$ AMP)
EC 4.99	Outras liases (protoporfirina IX + $\text{Fe}^{+2} \rightarrow$ Heme B + $\text{H}^+$ )

Adaptada de BNC, 2018.

**Tabela 1.7** Subclasse das isomerases – classe EC 5.

EC 5.1	Racemases e epimerases (L-alanina $\rightarrow$ D-alanina)
EC 5.2	Cis-trans-isomerases (malato $\rightarrow$ fumarato)
EC 5.3	Isomerases intramoleculares (gliceraldeído fosfatado $\rightarrow$ fosfato de glicerona)
EC 5.4	Transferases intramoleculares (mutases) (2-lisolecitina $\rightarrow$ 3-lisolecitina)
EC 5.5	Liasas intramoleculares (chalcona $\rightarrow$ flavona)
EC 5.99	Outras isomerases (benzil-isotiocianato $\rightarrow$ benzil tiocianato)

Adaptada de BNC, 2018.

**Tabela 1.8** Subclasse das ligases – classe EC 6.

EC 6.1	Formação de ligações entre carbono e oxigênio (ATP + glicina + tRNA $\rightarrow$ AMP + difosfato + glicil-tRNA)
EC 6.2	Formação de ligações C-S (ATP + acetato + CoA $\rightarrow$ AMP + difosfato + acetil-CoA)
EC 6.3	Formação de ligações C-N (ATP + aspartato + $\text{NH}_3 \rightarrow$ AMP + difosfato + asparagina)
EC 6.4	Formação de ligações C-C (ATP + piruvato + $\text{HCO}_3^- \rightarrow$ ADP + fosfato + oxaloacetato)
EC 6.5	Formação de ligações éster fosfórico [(ribonucleotídeo) <sub>n</sub> -3'-fosfato + 5'-hidroxiribonucleotídeo) <sub>m</sub> + GTP $\rightarrow$ (ribonucleotídeo) <sub>n+m</sub> + GMP + difosfato]
EC 6.6	Formação de ligações entre nitrogênio e metais (ATP + protoporfirina IX + $\text{Mg}^{2+}$ + $\text{H}_2\text{O} \rightarrow$ ADP + fosfato + Mg-protoporfirina IX + $\text{H}^+$ )

Adaptada de BNC, 2018.

## Mercado econômico de enzimas e oportunidades

.....  
Biocatalisadores enzimáticos são alternativas mais “verdes” à síntese química. Cerca de 40% dos processos químicos prejudiciais ao meio ambiente poderiam ser substituídos por sistemas enzimáticos.

Atualmente, existe uma grande demanda por biocatalisadores enzimáticos que apresentem alto desempenho de processo e que sejam alternativas mais “verdes” à síntese química. Neste sentido, estima-se que 40% dos processos que hoje exigem o uso de solventes químicos potencialmente prejudiciais ao meio ambiente poderiam ser substituídos por sistemas enzimáticos. Diante desse quadro, explica-se o interesse pela busca de novas enzimas, bem como pelo melhoramento no desempenho dos sistemas enzimáticos já utilizados, e justifica-se a evolução no faturamento desse setor nos últimos anos.

Em 2004 o faturamento do mercado de enzimas industriais movimentou US\$ 2,3 bilhões e foi previsto um crescimento de 5,7% ao ano até 2014, em valor transacionado, e até então estimava-se que esse mercado pudesse atingir US\$ 4 bilhões. Entretanto, seu faturamento superou a expectativa e atingiu US\$ 5 e 8 bilhões, respectivamente, em 2015 e 2017.

.....  
O mercado de enzimas industriais movimentou US\$ 8 bilhões em 2017. Grandes empresas concorrem entre si na síntese de biocatalisadores com diferentes atividades específicas e desempenhos.

O mercado global de enzimas industriais atualmente é dominado por três empresas multinacionais: Novozymes (Dinamarca), DSM (Holanda) e DuPont (EUA), esta última, após adquirir participação majoritária na Danisco e sua divisão Genencor. Essas empresas concorrem entre si na síntese de biocatalisadores com diferentes atividades específicas e desempenhos, bem como pelo uso de direitos de propriedade intelectual, pela capacidade de inovar, entre outros fatores. De acordo com o relatório anual de 2017, produzido pela Novozymes (que detém 48% do mercado global de produção de enzimas), quatro das suas cinco divisões cresceram nesse ano. Os principais segmentos que contribuíram para esse desempenho foram “alimentos e bebidas” e “bioenergia”, enquanto as vendas do setor de “agricultura e ração animal” diminuíram, como um reflexo do setor agrícola, que perdeu força no mundo neste mesmo período, de forma geral. A Figura 1.2 representa o consumo de enzimas industriais por conjunto de países no mundo em 2017.

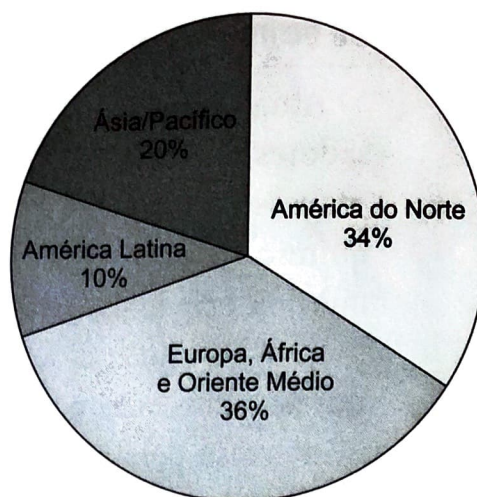


Figura 1.2 Consumo de enzimas industriais por conjunto de países em 2017. Adaptada de Winther, 2017.

Vale destacar que o crescimento orgânico global, isto é, o crescimento em razão do aumento da sua produção e vendas, do volume de enzimas industriais comercializadas pela Novozymes, em 2017, situou-se entre 4 e 6%, com exceção da América Latina, que apresentou queda de 1% para esse mesmo período, impactado, sobretudo, pela crise no agronegócio. Os setores de “cuidados domésticos e detergentes”; “alimentos e bebidas”; “bioenergia”, “agricultura e ração animal”; e “enzimas técnicas e farmacêuticas” representaram, respectivamente, 32, 28, 18, 15 e 7% das vendas, ressaltando-se que enquanto as áreas de “alimentos e bebidas” e “bioenergia” apresentaram um crescimento orgânico de vendas de 9 e 11%, nessa ordem, o setor de “agricultura e ração animal” expressou um crescimento orgânico de -3%.

Os principais setores consumidores de enzimas industriais são, em ordem decrescente: “cuidados domésticos e detergentes”, “alimentos e bebidas”, “bioenergia” e “agricultura e ração animal”.

O mercado de enzimas divide-se em: enzimas industriais (60%) e enzimas especiais – terapêuticas, para diagnóstico, para química quiral e para pesquisa (40%).

As proteases representam cerca de 60% do mercado global de enzimas industriais: peptidases alcalinas > tripsinas > reninas > outras peptidases.

O mercado de enzimas pode ser classificado em dois grandes grupos: (a) enzimas industriais (enzimas técnicas, enzimas para indústria de alimentos e enzimas para ração animal) e (b) enzimas especiais (enzimas terapêuticas, enzimas para diagnóstico, enzimas para química quiral e enzimas para pesquisa). Hoje, as enzimas de uso industrial representam 60% do mercado mundial. As peptidases configuram um dos grupos mais importantes de enzimas aplicadas em diferentes processos industriais e representam cerca de 60% do mercado global de enzimas industriais,

correspondendo a: peptidases alcalinas (25%), tripsinas (3%), reninas (10%) e outras peptidases (21%).

As enzimas são os (bio)catalisadores mais proficientes, especialmente em relação aos catalisadores químicos. No entanto, mesmo apresentando alto poder catalítico, a aplicação de certas enzimas em escala industrial não é viável em virtude de problemas de robustez de produção, armazenamento (perda de atividade), baixa atividade catalítica em determinadas temperaturas e solventes orgânicos, entre outros. A fim de superar essas questões, as principais estratégias consistem em: *screening* de enzimas a partir de microrganismos do domínio Archaea (grande parte é extremófila), utilização de ferramentas de engenharia genética (aumentando o rendimento e/ou a produtividade de produtos gênicos-alvo, tais como a expressão acentuada de genes que codificam enzimas de interesse industrial), desenvolvimento de técnicas de imobilização enzimática, entre outros. Logo, há inúmeras oportunidades de pesquisa e desenvolvimento em enzimologia, que faz com que haja uma tendência natural de crescimento desse mercado, seja pela redução dos custos de produção, seja pelo surgimento de novas áreas de aplicação ou pela descoberta de novas enzimas.

.....

A aplicação industrial de algumas enzimas é inviável por: baixa produtividade, perda de atividade no armazenamento, baixa atividade em temperaturas e solventes orgânicos específicos.

.....

As dificuldades podem ser superadas por: pesquisa em *screening* de enzimas de microrganismos extremófilos, aumento de rendimento usando engenharia genética e imobilização de enzimas.

Schmid *et al.* (2001) sinalizaram, em sua revisão, que empresas como BASF, DSM e Lonza objetivavam, cada vez mais, substituir processos químicos por biotecnológicos, utilizando enzimas ou microrganismos. Dessa maneira, essas empresas precisam adequar seus processos industriais à utilização de enzimas ou microrganismos que apresentem altos rendimentos e produtos de fácil recuperação, aliados, ainda, à redução de custos. Essa adequação a um processo novo pode ser monitorada pelo ciclo do biocatalisador, ilustrado na Figura 1.3.

## Oportunidades e aplicações das enzimas na indústria de alimentos

---

Na indústria de alimentos, as enzimas podem ser utilizadas em todas as etapas de produção, isto é, desde a matéria-prima até o produto final. Contudo, embora as

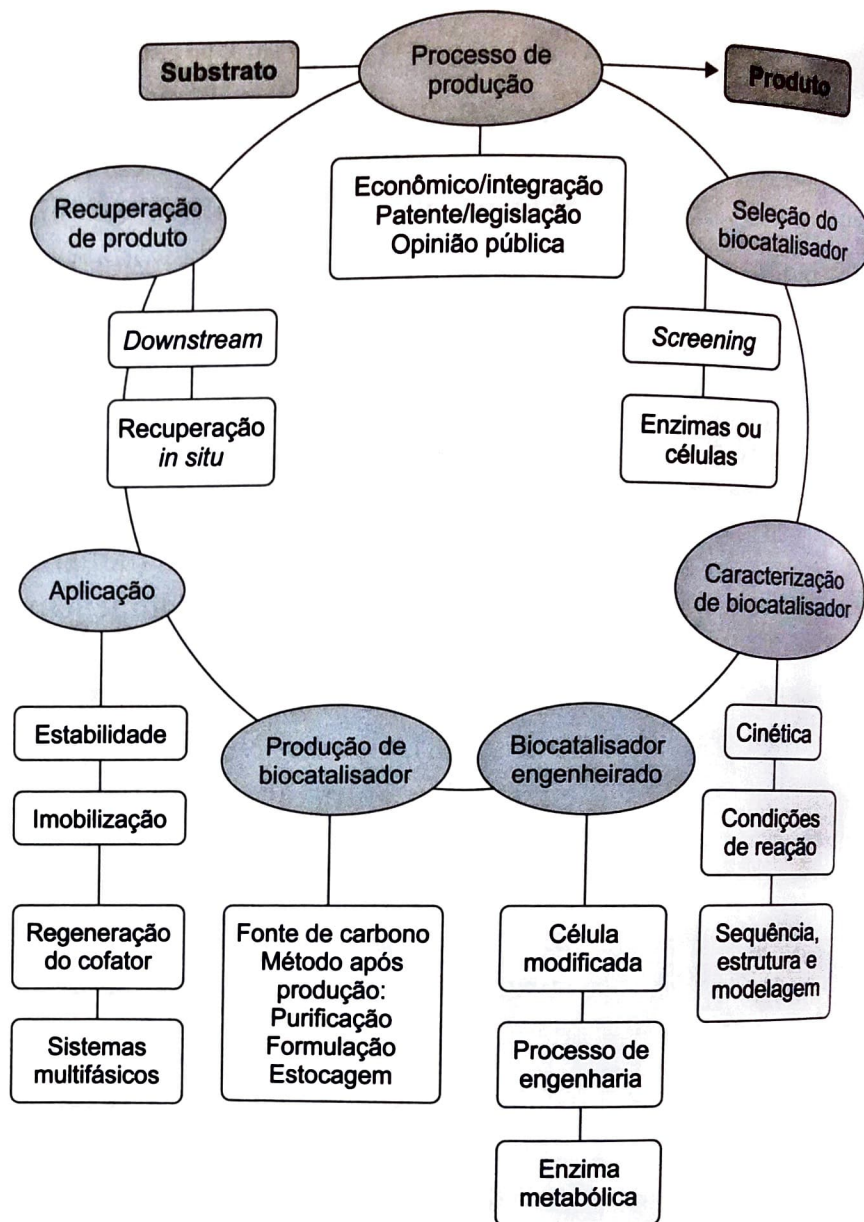


Figura 1.3 Ciclo do biocatalisador. Adaptada de Schmid *et al.*, 2001; Van Beilen e Li, 2002.

Na indústria de alimentos, as enzimas podem ser utilizadas em todas as etapas de produção. Atualmente são mais aplicadas hidrolases como: amilases, proteases e pectinases.

enzimas sejam os catalisadores mais eficientes para beneficiamento e fabricação de diversos produtos alimentícios, apenas uma modesta quantidade é utilizada em grande escala neste setor, a maioria da classe das hidrolases. Alguns exemplos das enzimas mais utilizadas são: amilases ( $\alpha$ -amilase e glicoamilase), peptidases (papaína, bromelina, renina e pepsina), pectinases e glicose-isomerases. Embora outras enzimas possam ser citadas nesta relação e sejam de uso corriqueiro na produção de alimentos, este é um valor discreto, quando se leva em conta o número de enzimas já estudadas. Assim sendo, a indústria de

alimentos ainda pode ser extremamente favorecida com a diversidade de fontes, aplicações e com a expansão da tecnologia enzimática em processamento de frutas e sucos, carnes e peixes, vinhos, cerveja, panificação e confeitaria, produção de laticínios, hidrólise do amido e celulose, bem como na produção de ingredientes e alimentos funcionais, como prebióticos e peptídeos bioativos. As Tabelas 1.9 e 1.10 ilustram a atuação e a aplicação de enzimas de origem vegetal/animal e microbiana, respectivamente, na indústria de alimentos.

Os principais campos de expansão da tecnologia enzimática no futuro próximo estarão em: sucos, carnes e peixes, vinhos, cervejas, panificação e confeitaria, produção de laticínios, hidrólise do amido e celulose, bem como na produção de ingredientes funcionais.

**Tabela 1.9** Enzimas provenientes de animais e plantas utilizadas na fabricação de alimentos.

Enzima	Fonte	Atuação	Aplicação em alimentos
$\alpha$ -amilase	Sementes de cereais (trigo, cevada)	Hidrólise do amido	Panificação; maltagem
$\beta$ -amilase	Batata-doce	Hidrólise do amido	Produção de xaropes de alto teor de maltose
Bromelina	Abacaxi ( <i>Ananas</i> sp.)	Hidrólise de proteínas	Tenderização de carnes
Lipase/esterase	Esôfago de caprinos e ovinos; abomaso de bezerro; pâncreas de suíno	Hidrólise de triglicerídeos	Realce do sabor em queijos; modificação da função de lipídeos por interesterificação
Lipo-oxigenase	Soja	Oxidação de ácidos graxos insaturados na farinha	Melhoria da massa do pão
Lisozima	Clara de ovo	Hidrólise de polissacarídeos da parede celular de bactérias	Prevenção do crescimento de <i>Clostridium tyrobutyricum</i> em queijos maturados
Papaína	Látex dos frutos verdes de mamão ( <i>Carica papaya</i> )	Hidrólise de proteínas	Tenderização de carnes; prevenção de turbidez em cerveja
Pepsina	Abomaso de bovinos	Hidrólise da caseína	Coagulação (atuação secundária) das caseínas para a produção de queijos; presente com a quimosina como parte do coalho
Quimosina (coalho)	Abomaso de bezerro	Hidrólise de $\kappa$ -caseína	Coagulação das caseínas para a produção de queijos
Tripsina	Bovina/suína	Hidrólise da proteína	Produção de hidrolisados para diversos usos

Tabela 1.10 Enzimas produzidas por rota microbiana e utilizadas na fabricação de alimentos.

Enzima	Fonte	Atuação	Aplicação em alimentos
$\alpha$ -amilase	<i>Aspergillus</i> spp.; <i>Bacillus</i> spp.; <i>Microbacterium imperiale</i>	Hidrólise de amido na farinha de trigo	Aumento do volume do pão
$\beta$ -galactosidase (lactase)	<i>Aspergillus</i> spp. <i>Kluyveromyces</i> spp.	Hidrólise da lactose do leite e do soro de queijo	Produtos para intolerantes à lactose; redução da cristalização em sorvetes; melhoria da funcionalidade do concentrado proteico de soro; fabricação de lactulose e de galactoligossacarídeos
$\beta$ -glicanase	<i>Aspergillus</i> spp.; <i>Bacillus subtilis</i>	Hidrólise de $\beta$ -glicanas em mosto de cerveja	Melhoria da filtração, prevenção de turbidez em cervejas
Amiloglucosidase	<i>Aspergillus niger</i> ; <i>Rhizopus</i> spp.	Hidrólise de dextrina em glicose (sacarificação)	Produção de xarope de milho com alto teor de frutose; produção de cervejas light
Aminopeptidase	<i>Lactococcus lactis</i> ; <i>Aspergillus</i> spp.; <i>Rhizopus oryzae</i>	Libera aminoácidos a partir do N-terminal de proteínas e peptídeos	Reduz o amargor de hidrolisados, acelera a maturação de queijos
Catalase	<i>Aspergillus niger</i> ; <i>Micrococcus luteus</i>	Decompõe o peróxido de hidrogênio em água e oxigênio	Tecnologia de remoção de oxigênio de embalagens, combinada com glicose oxidase
Celulase	<i>Aspergillus niger</i> ; <i>Trichoderma</i> spp.	Hidrólise da celulose	Liquefação da parede celular de frutas na produção de sucos
Ciclodextrina-glicanotransferase	<i>Bacillus</i> spp.	Sintetiza ciclodextrinas a partir de dextrina	Ciclodextrinas são microencapsulantes de grau alimentício para corantes, saborizantes e vitaminas
Glicose isomerase	<i>Actinoplanes missouriensis</i> ; <i>Bacillus coagulans</i> ; <i>Streptomyces lividans</i> ; <i>Streptomyces rubiginosus</i>	Converte glicose em frutose	Produção de xarope de milho com alto teor de frutose
Glicose oxidase	<i>Aspergillus niger</i> ; <i>Penicillium chrysogenum</i>	Oxida glicose em ácido glicônico	Remoção de oxigênio de embalagens de alimentos; remoção da glicose da clara de ovo para evitar o escurecimento
Hemicelulose e xilanase	<i>Aspergillus</i> spp.; <i>Bacillus subtilis</i> ; <i>Trichoderma reesei</i>	Hidrólise da hemicelulose	Melhoria da estrutura do miolo de pão
Lipase e esterase	<i>Aspergillus</i> spp.; <i>Candida</i> spp.; <i>Rhizomucor miehei</i> ; <i>Penicillium roqueforti</i> ; <i>Rhizopus</i> spp.; <i>Bacillus subtilis</i>	Hidrólise e síntese de ésteres de ácidos graxos	Realce do sabor em queijos; modificação da função de lipídeos por interesterificação; síntese de ésteres de aromas

(continua)



**Tabela 1.10** Enzimas produzidas por rota microbiana e utilizadas na fabricação de alimentos. (Continuação)

Enzima	Fonte	Atuação	Aplicação em alimentos
Pectinases (pectinestearase e poligalacturonase)	<i>Aspergillus</i> spp.; <i>Penicillium funiculosum</i>	Hidrólise da pectina	Extração e clarificação de sucos de frutas
Pululanase	<i>Bacillus</i> spp.; <i>Klebsiella</i> spp.	Hidrólise das ramificações na estrutura do amido	Melhoria da eficiência da sacarificação do amido
Protease	<i>Aspergillus</i> spp.; <i>Rhizomucor miehei</i> ; <i>Cryphonectria parasitica</i> ; <i>Penicillium citrinum</i> ; <i>Rhizopus niveus</i> ; <i>Bacillus</i> spp.	Hidrólise e proteínas	Coagulação do leite para fabricação de queijos; produção de hidrolisados para sopas e alimentos salgados; melhoria da massa do pão

Adaptada de Food Ingredients Brasil, 2011.

.....  
A maioria dos microrganismos ainda não é conhecida ou passível de ser cultivada em laboratório. Apenas cerca de 1% das bactérias e vírus e menos de 5% dos fungos são cultiváveis por técnicas clássicas.

.....  
Estudos que visem ao desenvolvimento de novas formas de cultura microbiana, à descoberta de novas enzimas a partir do conhecimento do metagenoma e à melhoria do desempenho por meio de métodos de evolução dirigida tendem a aumentar nos próximos anos.

Ressalta-se que, embora a maior parte da produção em escala industrial de enzimas seja de origem microbiana, estima-se que a maioria dos microrganismos ainda não seja conhecida ou passível de ser cultivada em laboratório. Pressupõe-se que cerca de 1% das bactérias e vírus e menos de 5% dos fungos sejam cultiváveis por técnicas clássicas. Assim, ferramentas moleculares inovadoras que independam do cultivo e/ou isolamento, tais como aquelas que se baseiam em extração direta de ácidos nucleicos de uma amostra, combinada a técnicas de clonagem e sequenciamento, tornam possível avaliar o potencial enzimático de consórcios microbianos até então desconhecidos. Estudos que visem ao desenvolvimento de novas formas de cultura microbiana, à descoberta de novas enzimas a partir do conhecimento do genoma dos organismos (metagenoma) e à melhoria do desempenho desses biocatalisadores por meio de métodos de evolução dirigida (alternativa no campo da engenharia genética de enzimas para aprimorar suas propriedades funcionais) se revestem de interesse científico e industrial e tendem a aumentar nos próximos anos.

### Considerações finais

Os dados apresentados neste capítulo demonstram a importância, o tamanho e a força do mercado de produção de enzimas no mundo e justificam o interesse, percebido

nos últimos anos, em pesquisa e inovação nessa área. Complementarmente, destaca-se que as forças norteadoras que estimulam o desenvolvimento e a promoção deste segmento incluem as exigências de uma sociedade mais consciente, que busca por novas rotas tecnológicas e pelo uso de produtos ambientalmente corretos.

No Brasil, o avanço da tecnologia enzimática é potencialmente beneficiado pela extensa variedade e abundância de matérias-primas renováveis, passíveis de serem transformadas, por via enzimática, em produtos de alto valor agregado para setores estratégicos da economia. Uma das formas propostas de alcançar esse objetivo é pela utilização de substratos de baixo custo para a produção de enzimas microbianas, uma vez que se estima que os substratos sintéticos clássicos possam representar de forma geral cerca de 30 a 40% do total de custos em processos fermentativos. Dentre esses substratos alternativos, os resíduos agroindustriais apresentam um excelente potencial de utilização, uma vez que, além de contribuir para reduzir os custos desse processo, minimizam o impacto ambiental. Além disso, existe também no país o conhecimento de tecnologias para síntese de enzimas em larga escala e para a otimização desses processos, bem como a maior biodiversidade do mundo como fonte para *screening* de novos biocatalisadores.

No Brasil, o avanço da tecnologia enzimática é beneficiado pela variedade e abundância de matérias-primas renováveis a serem transformadas, por enzimas, em produtos de alto valor agregado.

Na indústria de alimentos, a utilização de enzimas é essencial para a obtenção de novos produtos, a modificação de ingredientes e a formação de compostos altamente desejáveis

Algumas enzimas podem depreciar a qualidade do alimento natural durante o processamento e armazenamento, por isso devem ser adequadamente controladas.

Na indústria de alimentos, mais especificamente, a utilização de enzimas é essencial para a obtenção de novos produtos, modificação de ingredientes, formação de compostos altamente desejáveis, entre outros. Vale destacar que a ação de algumas enzimas nos alimentos também pode ocasionar consequências indesejáveis, depreciando sua qualidade. As reações enzimáticas ocorrem não somente no alimento natural mas também durante o seu processamento e armazenamento, por isso devem ser controladas adequadamente. Neste contexto, este livro descreve as principais questões referentes à aplicação de enzimas em produtos alimentícios e às reações enzimáticas que ocorrem naturalmente nos alimentos.

## Bibliografia

.....  
Leitura recomendada: Adrio;  
Demain, 2014; Choi; Han;  
Kim, 2015.

- ADRIO, J. L.; DEMAIN, A. L. Microbial enzymes: tools for biotechnological processes. *Biomolecules*, 4 (1): 117-139, 2014.
- BELITZ, H.-D. GROSCH, W. Enzymes. In: *Food Chemistry*. Berlin: Springer-Verlag, 1999. p. 92-151.
- BERGER, R. G. *Aroma Biotechnology*. Berlin: Springer Verlag, 1995. 240 p.
- BNC. Biochemical Nomenclature Committees. Disponível em: <<http://www.sbcs.qmul.ac.uk/iubmb/nomenclature/>>. Acesso em: 25 jun. 2018.
- BON, E.; FERRARA, M.; CORVO, M. *Enzimas em biotecnologia. Produção, aplicações e mercado*. Rio de Janeiro: Interciência, 2008. 506 p.
- CANHOS, V. P. Estratégia nacional de diversidade biológica. Microrganismos e biodiversidade de solos. Disponível em: <<http://www.bdt.fat.org.br/publicações/politica/gtt/gtt10>>. Acesso: 26 jan. 2003, 35 pp.
- CHOI, J.-M.; HAN, S.-S.; KIM, H.-S. Industrial applications of enzyme biocatalysis: Current status and future aspects. *Biotechnology Advances*, 33(7), 1443-1454, nov. 2015.
- COUTINHO, F. H.; GREGORACCI, G. B.; WALTER, J. M.; THOMPSON, C. C.; THOMPSON, F. L. Metagenomics sheds light on the ecology of marine microbes and their viruses. *Trends in Microbiology*, 955-965, nov. 2018.
- DIAS, B. F. S. Biodiversidade: perspectivas e oportunidades tecnológicas. A implementação da convenção sobre diversidade biológica no Brasil: desafios e oportunidades. Disponível em: <<http://www.bdt.fat.org.br/publicações/padct/bio/cap1/braulio.html>>. Acesso em: 26 jan. 2003.
- FABER, K. *Biotransformations in organic chemistry: a textbook*. Berlin: Springer Verlag, 2000. 453 p.
- FERRER, M.; MARTINEZ-MARTINEZ, M.; BARGIELA, R.; STREIT, W.R.; GOLYSHINA, O. V.; GOLYSHIN, P. N. Estimating the success of enzyme bioprospecting through metagenomics: Current status and future trends. *Microbial Biotechnology*, 9: 22-34, 2016.
- FOOD INGREDIENTS BRASIL. Enzimas: natureza e ação nos alimentos. *FIB*, 16: 26-37, 2011.
- IUBMB. International Union of Biochemistry and Molecular Biology. Disponível em: <<http://www.sbcs.qmul.ac.uk/iubmb/>>. Acesso em: 25 jun. 2018.
- KNUDSEN, M.S. The zymes. *Novozyme's Shareholder Magazine*, n. 2, September 2004.
- LIESE, A.; SEELBACH, K.; WANDREY, C. *Industrial Biotransformations*, Wiley-VCH Verlag GmbH, 2000. 422 p.