

BIOQUÍMICA DE ALIMENTOS

Prof. Severino Matias de Alencar



O que é Bioquímica de Alimentos?

“É uma ciência multidisciplinar que estuda a composição dos alimentos e das reações que levam à mudanças na sua constituição característica”

Interrupção das funções vitais

- Colheita vegetais
- Abate de animais



- Início das alterações físico-químicas;
- Biológicas (putrefação).



Agentes deteriorantes:

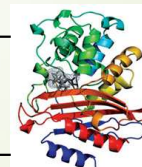
- microorganismos
- **enzimas**
- reações químicas
- reações biológicas



Papel das enzimas em alimentos

- **Influem na composição, processamento e deterioração dos alimentos;**
- **Portanto, ora são úteis ora são indesejáveis.**

Classe de reação	Exemplos
Escurecimento não enzimático	Produtos cozidos, secos e de umidade intermediária
Escurecimento enzimático	Frutas e hortaliças cortados
Oxidação	Ranço em lipídeos, degradação de vitaminas, descoloração de pigmentos
Hidrólise	Lipídeos, proteínas, amido
Interações com metais	Complexação (com proteínas), catálise da oxidação
Isomerização de lipídeos	Isomerização <i>cis</i> → <i>trans</i> , não conjugado→conjugado
Oxidação e polimerização de lipídeos	Formação de espuma durante a fritura
Desnaturação de proteínas	Coagulação da gema do ovo, inativação de enzimas
Interligação entre proteínas	Perda do valor nutricional em processamento alcalino
Síntese e degradação de polissacarídeos	Pós-colheita de plantas
Alterações glicolíticas	Pós-colheita do tecido vegetal, após o abate do tecido animal



Alterações em alimentos durante manipulação, processamento ou armazenamento

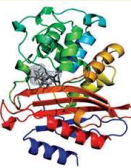
Atributo	Alteração
Textura	Perda de solubilidade Perda de capacidade de retenção de água Endurecimento Amolecimento
Sabor	Rancidez (hidrolítica ou oxidativa) Sabor cozido ou caramelizado Outros odores e sabores desejados ou indesejados
Cor	Escurecimento Clareamento
Valor nutricional	Redução da biodisponibilidade de componentes benéficos à saúde
Segurança	Produção ou inativação de substâncias tóxicas Produção de substâncias benéficas à saúde

Efeitos indesejáveis das enzimas

- **Escurecimento de frutas e vegetais causado pelas polifenoloxidasas**
- **Rancidez de farinhas causada pela ação de lipases e lipoxigenases**
- **Amolecimento de tecidos vegetais provocado pelas enzimas pécnicas**

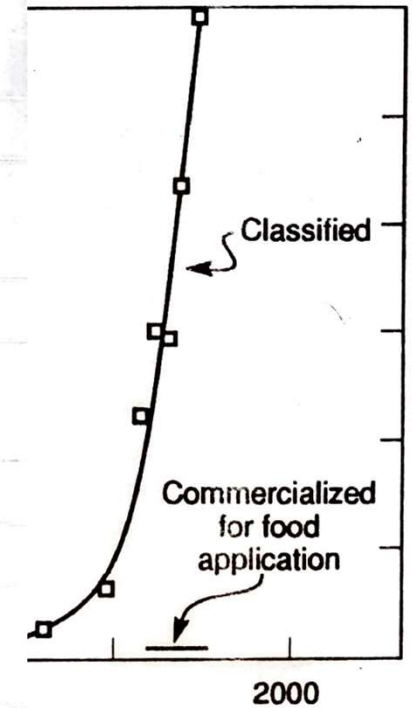
Efeito desejáveis das enzimas

- **Modificar matérias-primas e/ou obter produtos específicos**
 - ◆ **Panificação**
 - ◆ **Modificação enzimática de materiais amiláceos**
 - ◆ **Fabricação de sucos de frutas**
 - ◆ **Modificação de proteínas**
 - ◆ **Fabricação de bebidas alcoólicas**
 - ◆ **Fabricação de laticínios**

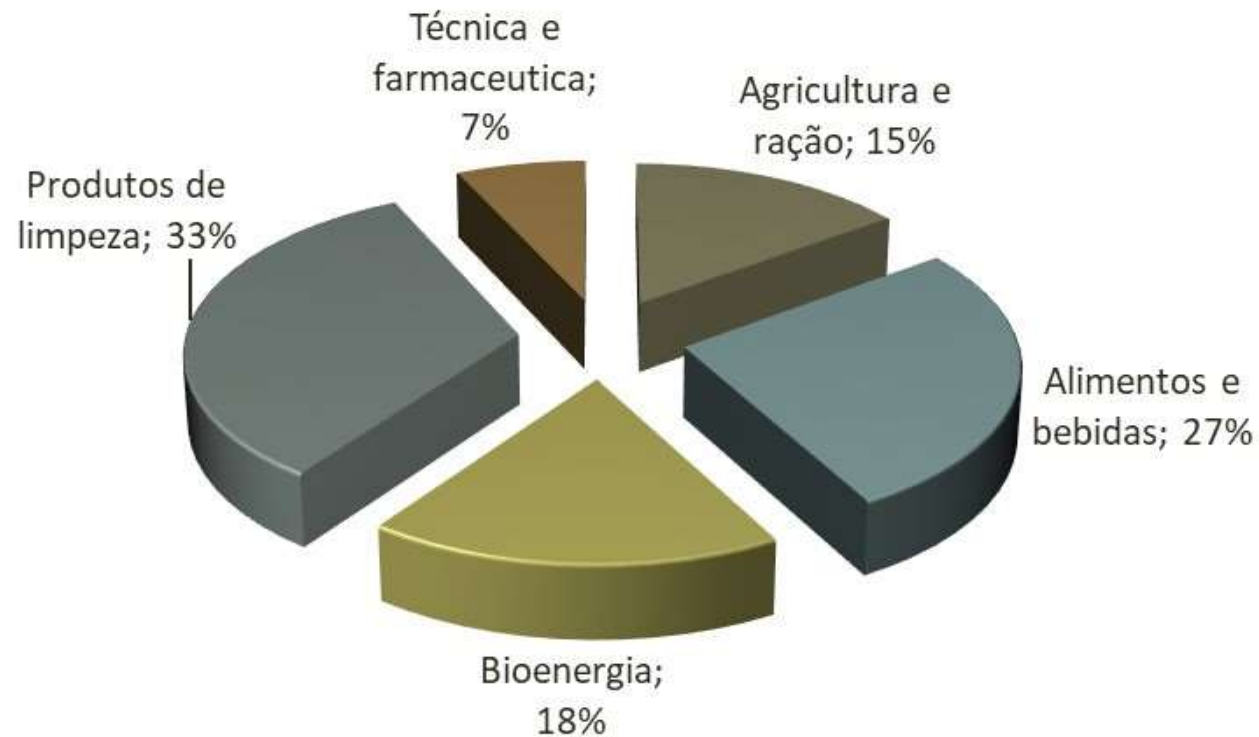


✓ A tecnologia enzimática é uma ferramenta interdisciplinar importante para o crescimento industrial sustentável

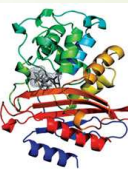
Indústria	Item
Agropecuária	Aditivos de ração
Alimentos	Produção de enzimas heterólogas
Detergentes	Enzimas usadas na preparação de Nutracêuticos; ingredientes
Energia	Novas enzimas de detergentes
Farmacêutica	Álcool combustível; biodiesel
Materiais	Compostos quirais
	Engenharia de glicoproteínas
	Enzimas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



Setores que utilizam enzimas



<http://report2015.novozymes.com/the-big-picture/2015-in-brief#map>

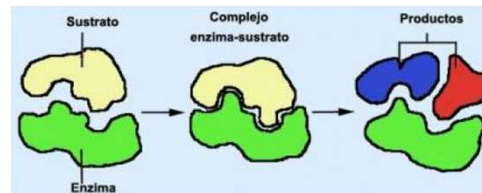


O que são enzimas?

- **Proteínas (polipeptídios) catalisadoras;**
- Forma mais comum e onipresente de catalisadores biológicos;
- Responsáveis por processos vitais e medeiam funções sintéticas, metabólicas, de renovação e de sinalização celular;
- **Exibem seletividade em relação aos substratos.**



Decomposição de 40.000.000 de moléculas de H_2O_2 por segundo



Classificação das Enzimas

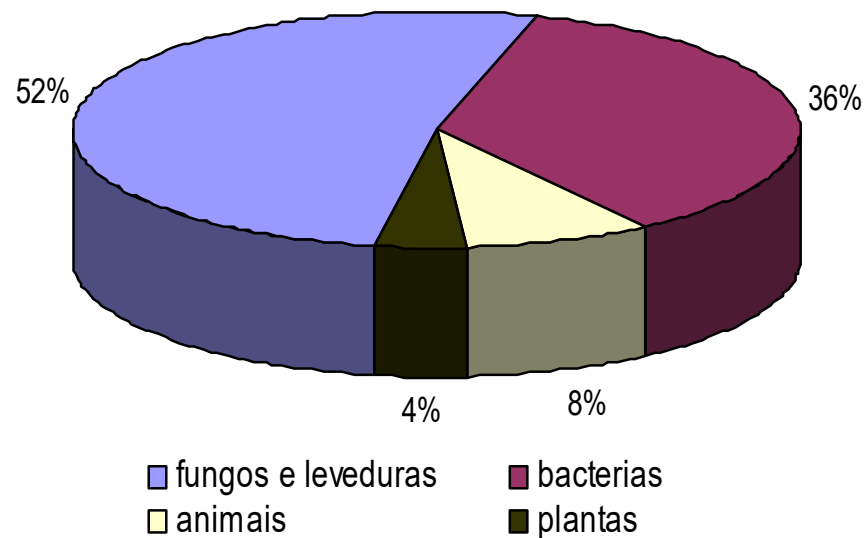
Classe	Nº de subclasses	Tipo de reação	Nomes mais comuns
E.C.1.-.- Oxidoreductases	20	Reações de óxido-redução (REDOX)	Dehidrogenase, reductase, oxidase
E.C.2.-.- Transferases	9	Reações de transferências de grupos de átomos	Nome do grupo doador + transferase ou nome do grupo receptor + transferase
E.C.3.-.- Hidrolases	12	Reações hidrolíticas	Hidrolase, nome do substrato + ase
E.C.4.-.- Liasas (sintases)	7	Reação de adição de dupla ligação e vice versa.	
E.C.5.-.- Isomerases	6	Reações de isomerização	Racemase, epimerase, cis-tran isomerase, tautomerase, mutase
E.C.6.-.- Ligases (sintetases)	5	Reações criando ligações entre duas moléculas menores, criando uma maior	



Fontes de enzimas

- Enzimas biologicamente ativas podem ser extraídas a partir de qualquer organismo vivo;
- Uma grande variedade de fontes são utilizadas para produção de enzimas comerciais.

- ✓ Animais
- ✓ Vegetais
- ✓ Microrganismos



Fontes de enzimas: origem animal

- Extração após abate;
- Tecidos são secos e triturados, solubilizados em solução tampão com pH específico, filtrados e centrifugados;
- Baixo rendimento;
- Principais são: renina (do abomaso de vitelos e animais adultos), pancreatina e pepsina (do sistema gastrointestinal de suínos) e lisozima (da claro de ovo).



Fontes de enzimas: origem vegetal

- De frutas, sementes e exsudatos de plantas (maior fração proteica neles);
- Células rompidas em moinho, prensadas, precipitadas por sulfato de amônio;
- Principais são: proteases papaína (mamão), ficina (figo) e bromelina (abacaxi) e amilases (da produção do malte de cevada).



Enzimas provenientes de animais e plantas utilizadas na fabricação de alimentos

Enzima	Fonte	Ação nos alimentos	Aplicação nos alimentos
α -amilase	Sementes de cereais (trigo, cevada)	Hidrólise do amido de oligossacarídeos	Panificação; cerveja (malte)
β -amilase	Batata doce	Hidrólise do amido em maltose	Produção de xaropes de alta maltose
Papaína	Látex dos frutos verdes de papaia	Hidrólise de proteínas em alimentos e bebidas	Tenderização de carnes; prevenção de névoa na cerveja
Bromelina	Suco de abacaxi e caule	Hidrólise de proteínas	Tenderização de carne Musculares e do tecido Conjuntivo
Ficina	Látex de frutos	Como a bromelina	Como a bromelina e a Papaína, mas não amplamente utilizado devido ao custo
Tripsina	Bovina/suína	Hidrólise da proteína dos alimentos	Produção de hidrolisados de aromas alimentícios (principalmente substituído por proteinases microbianas)
Quimosina (coalho)	Abomaso de bezerro	Hidrólise da <i>kappa</i> -caseína	Coagulação do leite em queijos
Pepsina	Abomaso de bovinos	Como a quimosina + hidrólise Da caseína mais geral de queijos	Usualmente presente com quimosina como parte do coalho
Lipase/esterase	Esôfago de caprinos e ovinos; Abomaso de bezerro; pâncreas de porco	Hidrólise de triglicédeos (gordura)	Realce do sabor em queijos; modificação da função de gordura por interesterificação
Lipoxigenase	Soja	Oxidação de ácidos graxos Insaturados na farinha	Melhora a massa do pão
Lisozima	Ovo de galinha branco	Hidrólise de polissacarídeos da parede celular bacteriana	Prevenção de defeitos de sopro final em queijos por bactérias formadoras de Esporos
Lactoperoxidase	Soro de queijo; colostro bovino	Oxidação do íon tiocianato	Esterilização a frio de leite para hipotiocianato bactericida



Enzimas de origem microbiana

- Correspondem a quase 90% das enzimas disponíveis para fins comerciais;
- Produção é de baixo custo;
- Maior controle do processo produtivo (não é suscetível à sazonalidade e à disponibilidade de alimentos);
- Utilização de matérias primas de composição constante;
- Opções de enzimas com estabilidades variadas em diferentes condições do processo (pH e temperatura);
- Alta produtividade (tempo menor para geração de um microrganismo).



Enzimas derivadas de microrganismos e utilizadas na fabricação de alimentos

Enzima	Fonte	Ação nos alimentos	Aplicação nos alimentos
α -amilase	Aspergillus Spp Bacillus spp.* Microbacterium imperiale	Hidrólise do amido de trigo.	Amolecimento da massa, aumento do volume do pão, ajuda à produção de açúcares para a fermentação de leveduras.
α -acetolactato decarboxilase	Bacillus subtilis*	Converte acetolactato em acetoína.	Redução do tempo de maturação do vinho pela necessidade de contornar a fermentação secundária de diacetil para acetoína.
Amiloglucosidase	Aspergillus niger Rhizopus Spp.	Hidrólise da dextrina do amido em glicose (sacarificação).	Uma fase de produção de xarope de milho de frutose elevada; produção de cervejas light.
Aminopectidase	Lactococcus lactis Aspergillus spp. Rhizopus oryzae	Libera aminoácidos livres a partir do N-terminal.	Proteína de amargor de hidrolisados, acelera a maturação do queijo.



Enzimas derivadas de microrganismos e utilizadas na fabricação de alimentos

Catalase	<i>Aspergillus niger</i> * <i>Micrococcus luteus</i>	Decompõe o peróxido de hidrogênio em água e oxigênio.	Tecnologia de remoção de oxigênio, combinada com glicose oxidase.
Celulase	<i>Aspergillus niger</i> <i>Trichoderma</i> spp.	Hidrólise da celulose	Liquefação da fruta na produção de sucos.
Quimosina	<i>Aspergillus awamori</i> * <i>Kluyveromyces lactis</i> *	Hidrólise da kappa-caseína.	Coagulação do leite para queijo.
Ciclodextrina Glucanotransferase	<i>Bacillus</i> spp.*	Sintetiza ciclodextrinas a partir de amido liquefeito.	Ciclodextrinas microencapsuladas de grau alimentício para cores, sabores e vitaminas.
β -galactosidase (lactase)	<i>Aspergillus</i> spp. <i>Kluyveromyces</i> spp.	Hidrólise da lactose do leite em glicose e galactose.	Adoçantes de leite e soro; produtos para indivíduos intolerantes à lactose; redução da cristalização em sorvetes contendo soro de leite; melhorar a funcionalidade do concentrado protéico; fabricação de lactulose.
β -glucanase	<i>Aspergillus</i> spp <i>Bacillus subtilis</i> *	Hidrólise de beta-glucanas em cerveja.	Auxiliares da filtração, prevenção de névoa na produção de cervejas
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 rico em frutose (adoçante de bebidas).
Glicose oxidase	<i>Aspergillus niger</i> * <i>Penicillium chrysogenum</i>	Oxida glicose em ácido glucônico.	Remoção de oxigênio de embalagens de alimentos; remoção de glicose a partir 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 (polissacarídeos não amiláceos insolúveis na farinha).	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 de triglicérides em ácidos graxos e glicerol; hidrólise de ésteres de alquila em ácidos graxos e álcool.	Realce do sabor em queijos; modificação da função de gorduras por interesterificação; síntese de ésteres de aromas.



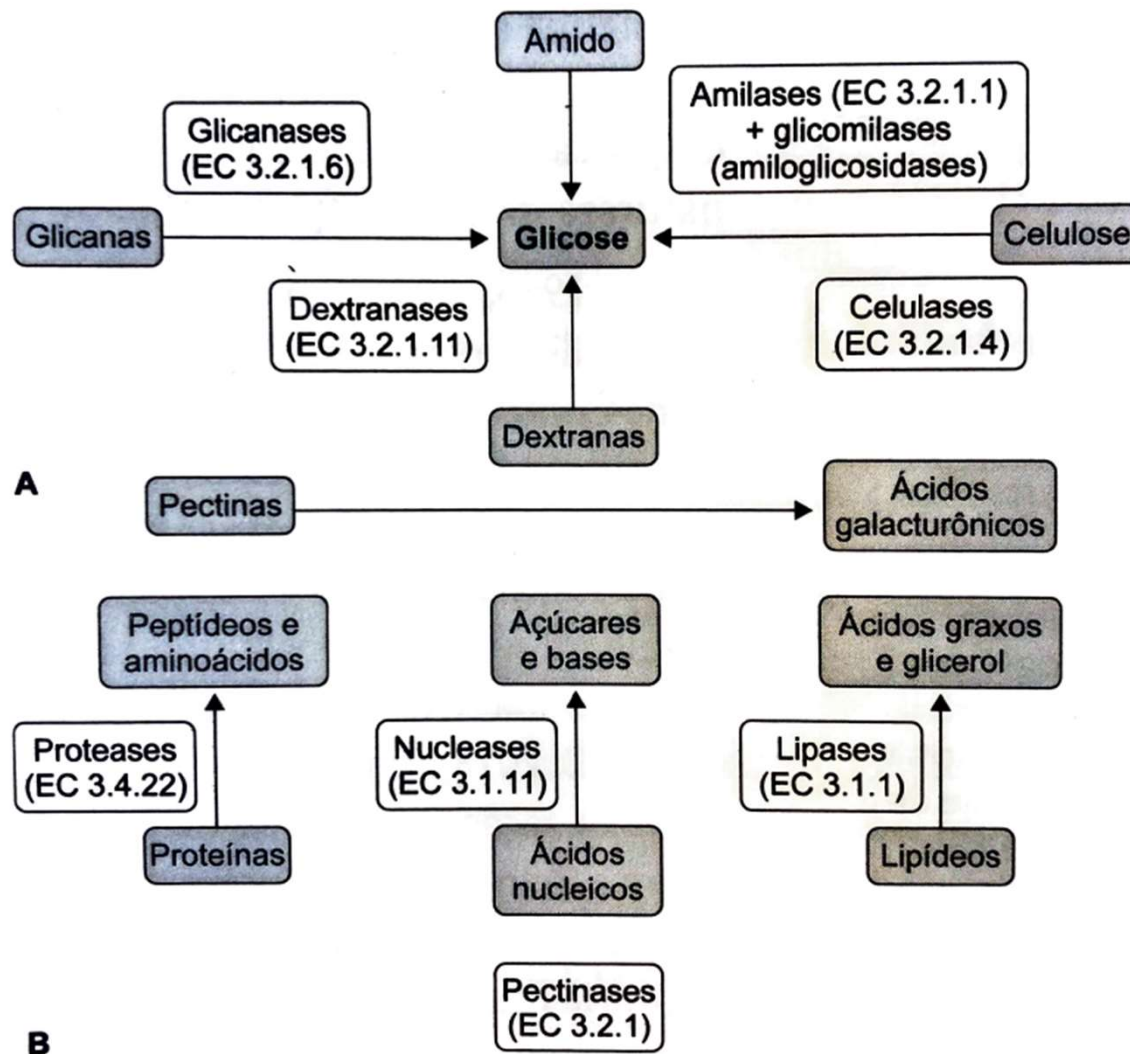
Enzimas derivadas de microrganismos e utilizadas na fabricação de alimentos

Pectinase (poligalacturonase)	Aspergillus spp. Penicillium funiculosum	Hidrólise da pectina.	Clarificação de sucos de frutas por despectinização.
Pentosanase	Humicola insolens Trichoderma reesei	Hidrólise de pentosanas (polissacarídeos não amiláceos solúveis em farinhas de trigo).	Parte da tecnologia para melhorar a massa.
Pululanase	Bacillus spp.* Klebsiella spp.*	Hidrólise das ligações 1-6 que formam ramificações na estrutura do amido.	Sacarificação do amido (melhora a eficiência).
Protease (proteinase)	Aspergillus spp.* Rhizomucor miehei Cryphomectria parasítica Penicillium citrinum Rhizopus niveus Bacillus spp.*	Hidrólise da kappa- caseína; hidrólise de proteínas alimentícia animais e vegetais; hidrólise do glúten do trigo.	Coagulação do leite para fabricação de queijos; produção de hidrolisados para sopas e alimentos salgados; melhora a massa do pão.

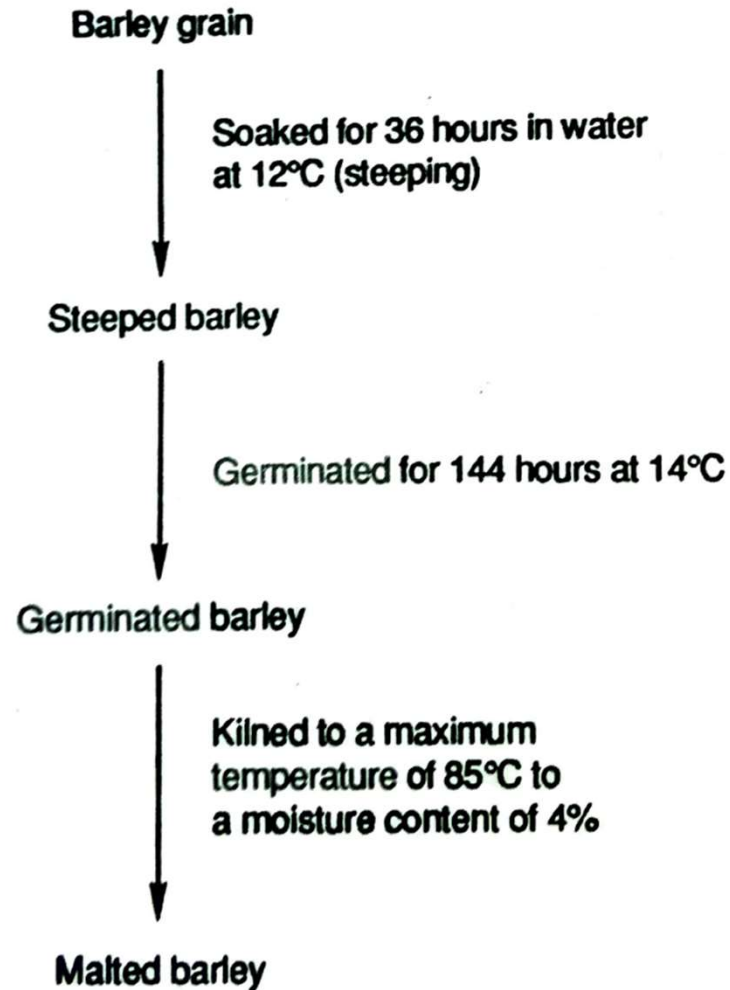


Utilização da protease do fungo *Mucor miehei* para coagulação do leite

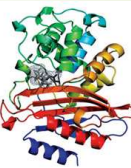




Maltagem de cevada



SCHEME 11.1. Outline of process involved in the production of malt barley.



Purificação de enzimas para aplicação em alimentos e bebidas

- Objetivo é remover impurezas do extrato bruto e obter a enzima pura isolada com atividade enzimática preservada;
- Envolve etapas prévias à purificação em si.

Processo geral para obtenção de enzimas

Vegetal, Animal, Microrganismo

Maceração

Centrifugação

Extrato celular (**extrato bruto**)

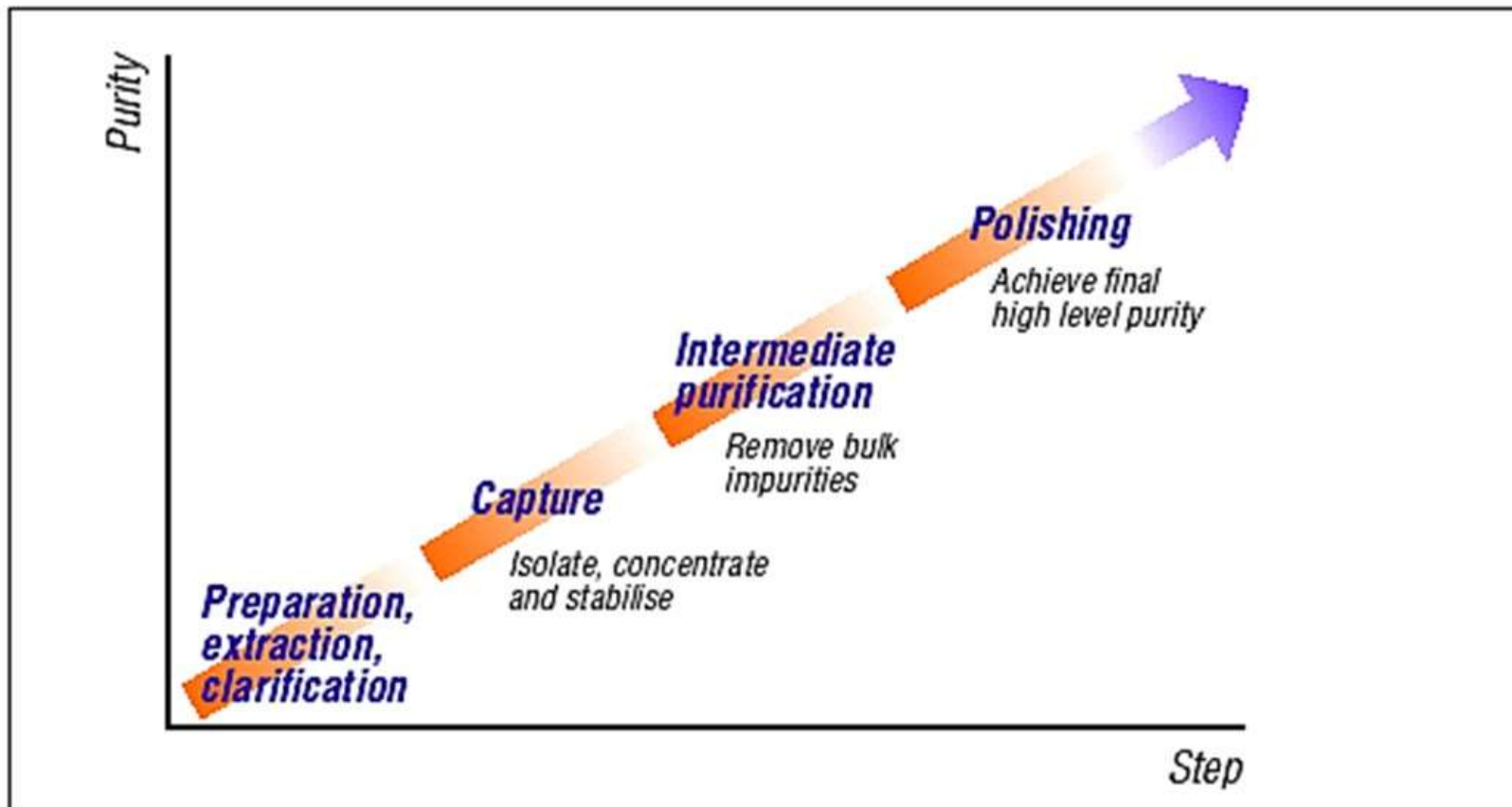
*Precipitação com
sulfato de amônio*

Extrato clarificado

Purificação

enzima

Etapas da purificação de enzimas



Processo depende da localização das enzimas

Enzimas podem estar:

- • No meio extracelular (enzimas extracelulares)
- • No interior das células (enzimas intracelulares)
- • Na membrana das células

Enzimas extracelulares

Processo mais simples e econômico, envolvendo:

- Clarificação: células são removidas por centrifugação ou filtração;
- Concentração ou precipitação com sulfato de amônio
- Purificação.

Enzimas intracelulares

Necessário o rompimento das células previamente à...

- Clarificação por centrifugação ou floculação;
- Precipitação com sulfato de amônio;
- Purificação.

Enzimas de membrana

Processo mais complexo, envolvendo...

- Solubilização;
- Clarificação;
- Purificação.

Etapa do processo	Operações unitárias
Clarificação (separação de células e seus fragmentos do meio de cultivo)	Filtração convencional, centrifugação, filtração tangencial, floculação
Rompimento de células	Homogeneização, moagem em moinho de bolas, rompimento químico ou enzimático
Purificação de baixa resolução	Precipitação (<i>salting out</i>), diálise, ultracentrifugação, etc
Purificação de alta resolução	Cromatografia de troca iônica, por afinidade, de fase reversa e de exclusão molecular
Tratamentos finais (operações para acondicionamento final do produto)	Cristalização, liofilização, secagem

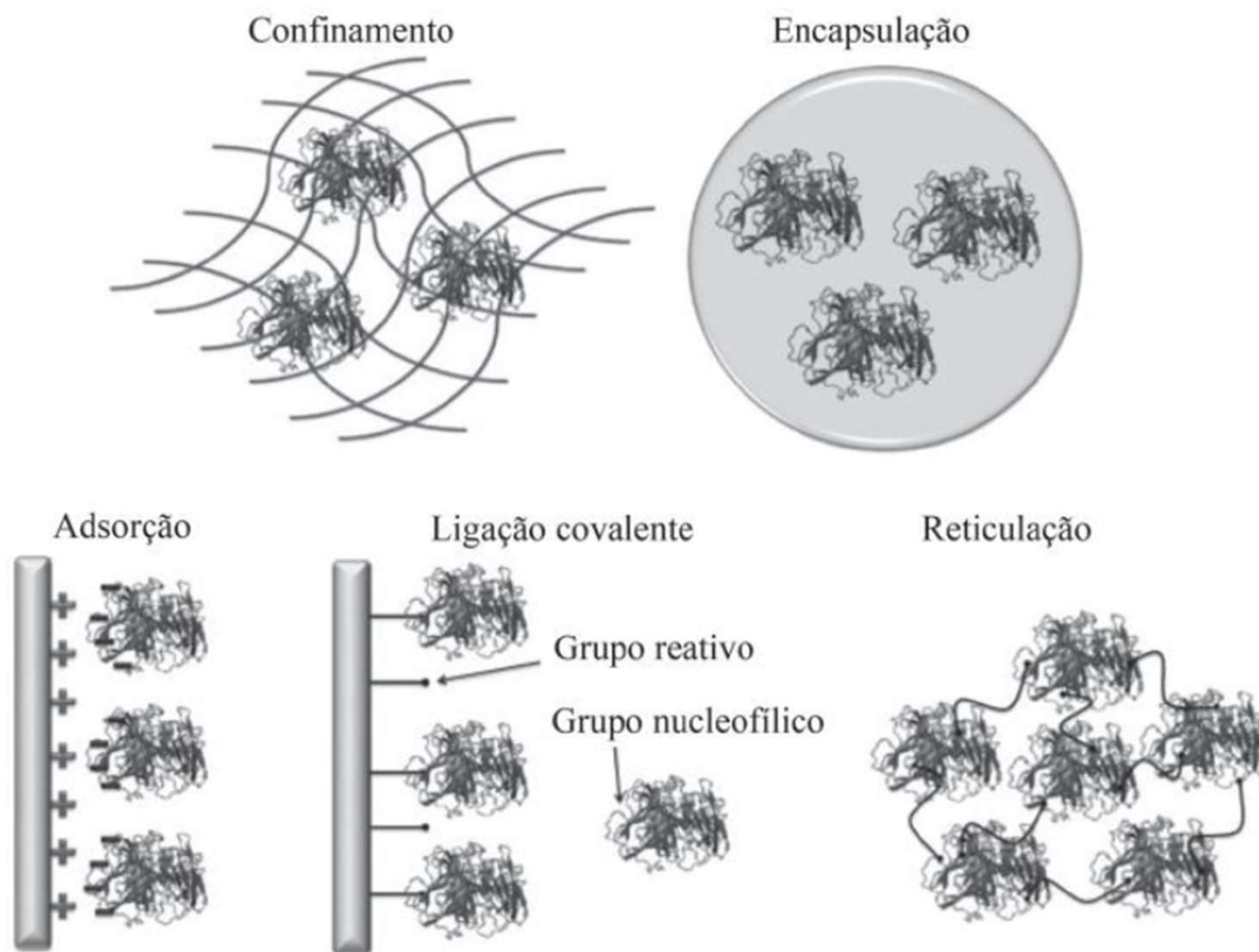
Imobilização de enzimas

Reações enzimáticas são mais específicas e requerem condições menos drásticas do que reações químicas (pH, temperatura e características do meio reativo)

Todavia...

- •... enzimas são catalisadores relativamente caros e viabilidade de uso pode depender da possibilidade de reutilizá-las;
- • Para **reuso**, as enzimas não podem estar dissolvidas no meio, mas presas em uma matriz física, para permitir a sua recuperação no fim do processo.

Figura 2 - Esquema dos métodos de imobilização de enzimas



Fonte: Fernández-Fernández *et al.* (2013)

Imobilização é uma das tecnologias desenvolvidas visando o reuso de enzimas;

- Enzimas imobilizadas...
- ... permitem a utilização de reatores mais simples
- ... facilitam a etapa de paralização da reação enzimática
- ... normalmente apresentam desempenho melhor que a enzima em sua forma livre

Melhora no desempenho relacionado...

- ... com o aumento da estabilidade, atividade, especificidade, seletividade e redução do efeito de possíveis inibidores presentes no meio reativo;
- **Isso porque** o sistema de imobilização age como uma matriz capaz de proteger a enzima do meio em que ela se encontra, mimetizando, por exemplo, uma estrutura celular (microbiana, animal ou vegetal), na qual a enzima é naturalmente encontrada.

Procedimentos de imobilização

- Importante que não prejudiquem sua atividade, seja...
- ... pela redução da acessibilidade da enzima ao substrato

OU

- ... por modificações estruturais na enzima causadas pela imobilização, com conseqüente alteração do sítio ativo
- **Adicionalmente**, esses procedimentos não podem utilizar reagentes instáveis ou tóxicos

Procedimentos de imobilização

- Podem ser realizadas com uso de suporte físico ou não;
- Se sim, enzimas podem ser adsorvidas a eles ou ligadas quimicamente por ligações covalentes;
- Há também técnicas recentes sem o uso de suportes por meio de ligações cruzadas de enzimas cristalizadas ou ligações cruzadas de agregados enzimáticos.

Imobilização enzimática tradicional

- Uso de suportes porosos para a adsorção de enzimas;
- Enzimas são completamente dispersas na matriz sólida, fazendo com que não tenham interação com a interface externa do suporte;
- Esse método impede a agregação das enzimas, além da autólise e proteólise por proteínas;
- Também minimiza o contato das enzimas com agentes desnaturantes presentes no meio.

Imobilização enzimática tradicional

- **Logo**, o uso desses suportes porosos promove uma estabilização operacional da enzima sem afetar a sua estrutura
- **Todavia...**
- Uso dos suportes porosos dificulta o acesso do substrato à enzima, podendo diminuir a velocidade de catálise enzimática

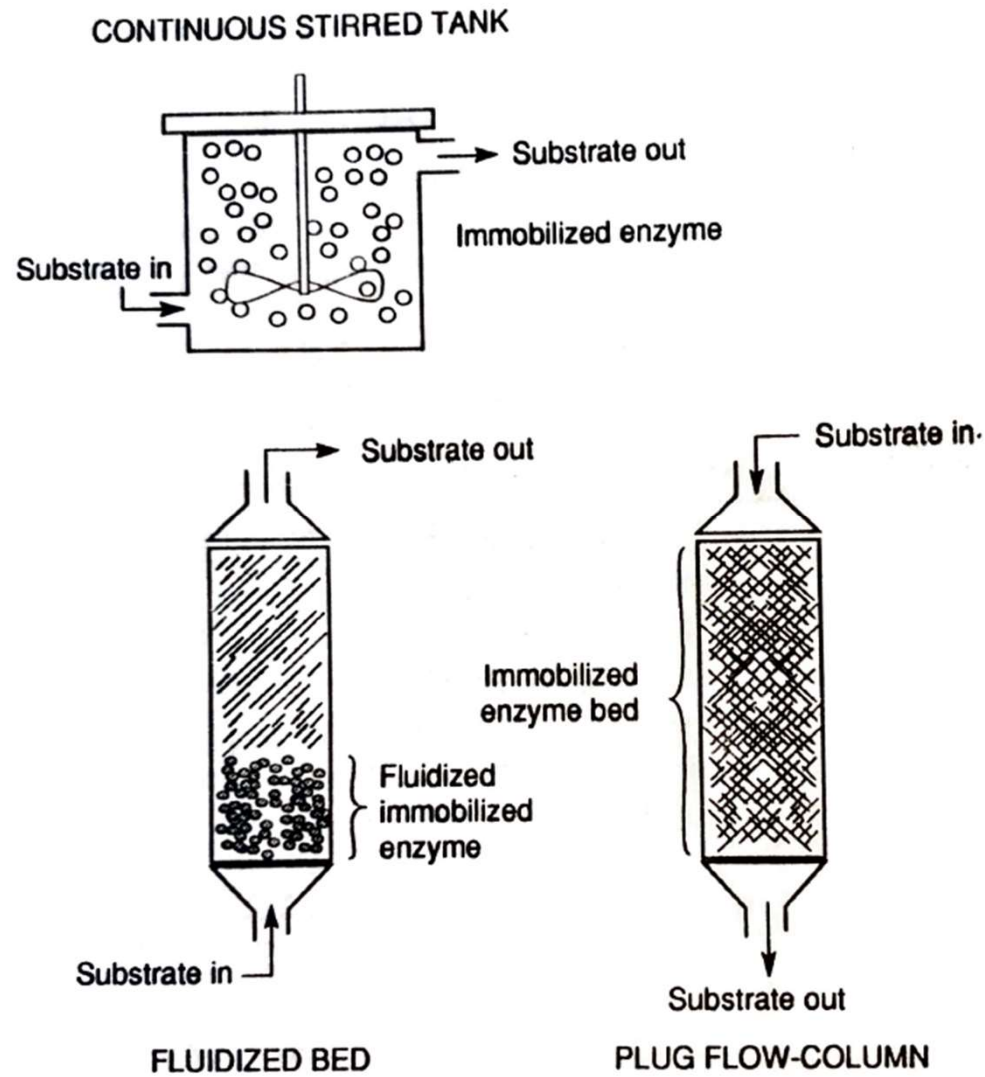


FIG. 11.10. Reactor designs for immobilized enzymes (Weetall, 1973).

Imobilização por múltiplas ligações covalentes de enzimas com suporte não poroso

- • Forma-se estrutura rígida, que...
- • ... minimiza as alterações causadas por agentes de distorção molecular, como calor, solventes orgânicos, valores extremos de pH, promovendo...
- • ... o aumento da estabilidade enzimática
- • **Para isso**, é necessário o uso de um suporte que permita a formação de um grande número de ligações com a enzima, sem afetar a estrutura, o que causaria perda da atividade catalítica.

Será disponibilizado material texto na plataforma e-disciplina

Obrigado