

# ENZIMAS E SUAS APLICAÇÕES COM ÊNFASE NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS

Enzymes and their applications with emphasis in the food industry

Andressa Franco Denti<sup>1</sup>, Caroline Chies Polina<sup>1</sup>, Jaqueline Vanz<sup>1</sup>, Julia Lisboa Bernardi<sup>1</sup>, Loise Martini Becker<sup>1</sup>, Sandra Maria Schenatto Palavicini<sup>1</sup>, Thais Feiden<sup>1</sup>, Geciane Toniazzo Backes<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, RS, Brasil.

\*E-mail: gtoniazzo@uricer.edu.br

Data do recebimento: 16/03/2022 - Data do aceite: 10/06/2022

**RESUMO:** Por conta do aumento da demanda por processos sustentáveis e da preocupação com a segurança alimentar, a busca por estratégias para a elaboração de produtos ecologicamente corretos é crescente na engenharia de alimentos. O emprego de enzimas para acelerar a conversão dos produtos torna-se atrativo devido à sua alta especificidade, além dessas apresentarem altas atividades em condições brandas de temperatura e pH. Assim, são empregadas, de forma eficiente, em diversas reações, como na produção de açúcares, bebidas, cervejas e laticínios, na panificação e biscoitaria, no amaciamento de carnes, entre outros. Devido à alta aplicabilidade de enzimas no setor alimentício, o objetivo do presente estudo foi realizar uma revisão bibliográfica a respeito das principais enzimas utilizadas em alimentos, com ênfase nas proteases, carboidrases e lipases, avaliando suas fontes de obtenção, sua classificação e aplicações, mostrando que o uso dessas enzimas se enquadra nos princípios da química verde, fazendo uso de metodologias sustentáveis, trazendo benefícios à saúde dos seres humanos, com danos mínimos ao meio ambiente.

**Palavras-chave:** Enzimologia. Engenharia de Alimentos. Tecnologia Industrial. Produtos Alimentícios.

**ABSTRACT:** Due to the increased demand for sustainable processes and the concern with food safety, the search for strategies for the elaboration of ecologically correct products is increasing in food engineering. The use of enzymes to accelerate the conversion of products becomes attractive due to their high specificity, in addition to these having high activities under mild

conditions of temperature and pH. Thus, they are efficiently used in various reactions such as in the production of sugars, beverages, beers and dairy products, in bakery and biscuits, in meat tenderization, among others. Due to the high applicability of enzymes in the food industry, the objective of the present study was to carry out a literature review about the main enzymes used in food, with emphasis on proteases, carbohydrases and lipases, evaluating their sources of production, their classification and applications, showing that the use of these enzymes fits the principles of green chemistry, making use of sustainable methodologies, bringing benefits to the human beings' health, with minimal damage to the environment.

**Keywords:** Enzymology. Food Engineering. Industrial Technology. Food Products.

## Introdução

Enzimas são biocatalisadores extraídos a partir de células e conseguem aumentar a velocidade de reações químicas, reduzindo a energia necessária para a ativação. Devido à sua aplicabilidade em diversas áreas, despertam grande interesse de indústrias químicas, farmacêuticas e alimentícias (HETTIARA-CHCHY et al., 2018; ASHKAN et al., 2021, DENTI, 2021).

Em 2019, o mercado global das enzimas industriais foi estimado em US\$2,4 bilhões, e deve chegar a 3,2 bilhões em 2025 (ZHANG et al., 2020; BAPTISTE, 2020). As enzimas têm sido usadas, em grande escala, na indústria de tecidos (celulases), detergentes (proteases e lipases), alimentos e bebidas (amilases, pectinases, proteases e celulases), couro (proteases e lipases) e na dieta de ruminantes (fibrolíticas) (GRIEBELER et al., 2015; SURIYA et al., 2016; MURUGAN et al., 2020; MEHTA et al., 2021, RIGO et al., 2021).

Devido ao aumento na demanda por processos agrícolas sustentáveis e a preocupação com a segurança alimentar, a busca por estratégias para a elaboração de produtos ecologi-

camente corretos é crescente. Metodologias sustentáveis que possam ser empregadas no meio industrial vão ao encontro dos padrões definidos pela química verde. Dessa forma, a substituição de catalisadores químicos por biocatalisadores, nos processos produtivos, apresenta-se como uma alternativa atrativa (SOUZA et al., 2017; MORSHED et al., 2021; DENTI, 2021)

O emprego de enzimas para acelerar a conversão dos produtos torna-se atrativo por conta da alta especificidade, além dessas apresentarem atividade em condições brandas de temperatura e pH, sendo assim, empregadas de forma eficiente em diversos processos como na produção de açúcar, bebidas, cervejas e laticínios (XIE; ZHANG; SIMPSON, 2022; SOUZA et al., 2017; MORSHED et al., 2021; DENTI, 2021). Dessa forma, o objetivo do estudo foi realizar uma revisão bibliográfica sobre o uso de enzimas na indústria de alimentos, classificação, produção e aplicações.-

## Metodologia

A metodologia empregada baseou-se em estudo bibliográfico pela análise de artigos científicos, dissertações, teses, monografias

e livros a partir das bases de dados e sites de busca: Springer, ACS Publications, Science Direct, *SciELO* (Scientific Electronic Library Online), Google Scholar e Wiley Online Library, em língua inglesa e portuguesa, no período de 2010 a 2021, sem desconsiderar publicações relevantes de anos anteriores.

## Desenvolvimento

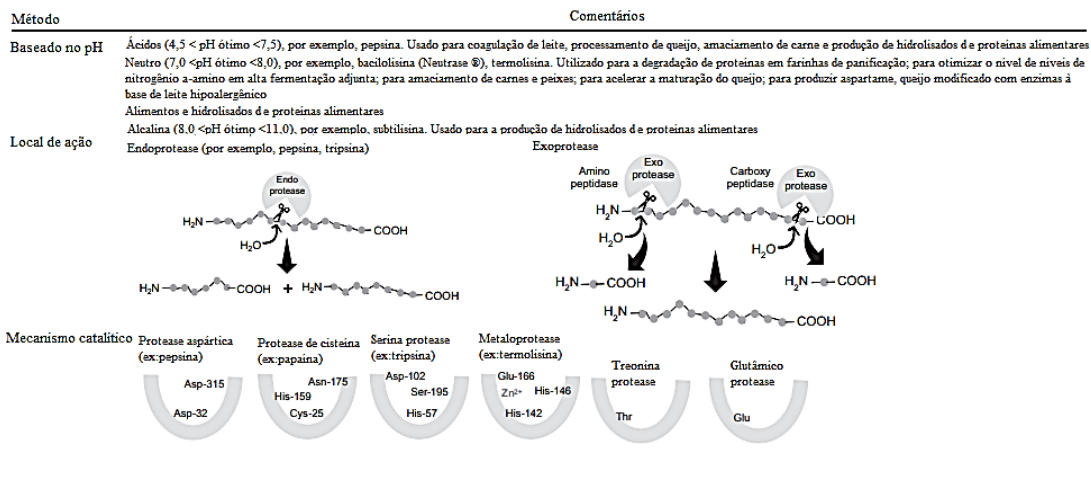
### Proteases

Com a capacidade de catalisar a hidrólise de ligações peptídicas em proteínas e peptídeos (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010), as proteases representam um dos grupos enzimáticos mais importantes comercialmente, correspondendo a 60% do total das enzimas industriais e 40% das vendas globais de enzimas (DENTI, 2021). Pertencentes ao grupo 3 das hidrolases e ao subgrupo 4, hidrólise de ligações peptídicas, podem ser classificadas com base na fonte de isolamento (animal, vegetal ou microbiana), ação catalítica (exo- ou endopeptidase), tamanho molecular e especificidade do substrato (AGUILAR; SATO, 2018).

São classificadas como exopeptidases, aminopeptidases e carboxipeptidases, hidrolisando ligações peptídicas adjacentes aos terminais amino ou carbonil incorporado ao substrato e as endopeptidases, que dividem a ligação peptídica distante do substrato, podendo ser categorizadas como serino, cisteíno, aspártico e metaloproteases de acordo com o grupo funcional do sítio ativo e seu mecanismo de ação encontra-se ilustrado na (Figura 1) (NAVEED et al., 2021). Aminopeptidases atuam em um nitrogênio terminal livre da proteína, liberando como resíduo um monoaminoácido, um dipeptídeo ou um tripeptídeo. Podem ser produzidas por células-microbianas, vegetais e animais de forma extra ou intracelular. Atuando nos terminais carbônicos da cadeia proteica, as carboxipeptidases participam do processo de digestão de moléculas e alimentos e na coagulação sanguínea (GURUMALLESH et al., 2019).

As serino proteases correspondem a um terço das enzimas proteolíticas, agem no centro da cadeia peptídica, em alguns casos podem hidrolisar ligações nas extremidades da cadeia (THAKUR et al., 2018). Atuam em

Figura 1. Mecanismo de ação das endopeptidases e exopeptidases



Fonte: Fernandes (2018)

pH entre 6-8 e 50-70°C, sendo a ativação influenciada pelo cianeto de hidrogênio, devido à presença do grupo funcional sulfidril (SH) (NAVEED et al., 2021). As metaloproteases são dependentes de zinco para a atividade enzimática e de cálcio para a estabilidade estrutural. Incluem colagenase e gelatinase, tendo um papel importante na degradação e remodelação de matrizes extracelulares (BRANDÃO et al., 2018). Por fim, proteases aspárticas possuem um sítio catalítico central composto por um par de aspartatos, atuando em faixas de pH ácidas (SOUZA et al., 2017; PURUSHOTHAMAN et al., 2021).

As proteases desempenham funções importantes no controle de uma diversidade de células e processos extracelulares em animais e plantas, como é o caso da germinação, resposta a estímulos ambientais, senescência, entre outros (RAZZAQ et al., 2019; AFSHARNEZHAD, SHAHANGIAN; SARIRI, 2018). As proteases de fontes microbianas têm sido utilizadas devido ao rápido e fácil cultivo dos microrganismos, tornando possível a produção em larga escala, com menor custo e tempo de processo, além de apresentar tempo de vida útil prolongado. São produzidas normalmente de modo extracelular, sendo secretadas para o caldo

fermentativo, facilitando sua recuperação e purificação (SHARMA et al., 2017).

As proteases obtidas de fontes vegetais têm destaque industrial por apresentarem alta estabilidade em amplas faixas de pH e temperatura, com ou sem a presença de aditivos ou compostos orgânicos (CHINNA-DURAI; KRISHNAN; PERUMAL, 2018). Porém, seu uso é muito limitado por conta das dificuldades da sua extração do tecido vegetal e por seu baixo rendimento, que se deve pela presença de uma parede celular muito resistente e de compostos fenólicos e polissacarídeos considerados contaminantes que prejudicam a solubilização dessas proteínas. Dessa forma, há a necessidade da utilização de uma sequência de técnicas para sua purificação, que aumenta o custo do processo e, conseqüentemente, do produto final e dificulta a sua produção em uma escala maior (SILVA et al., 2017).

Proteases de origem animal (pancreática, tripsina, pepsina, quimotripsina e renina) apresentam maior rendimento de produção quando comparadas com as de origem vegetal. No entanto, sua produção é insuficiente para atender a demanda industrial por depender de grande quantidade de matéria-prima para produção e tempo elevado para a cria-

**Tabela I.** Proteases e suas fontes de obtenção

Tipo	Fonte	Referências
Protease aspártica	Macrofungo <i>Lentinus crinitus</i> (L.)	BRITO et al., 2019
Cisteino-proteases	Látex de <i>Calotropis procera</i>	SILVA, 2019
Serino-proteases	<i>Bacillus subtilis</i> D9	MAHMOUD et al., 2021
Cisteino-proteases	<i>Ficus Johannis</i>	AFSHARNEZHAD, SHAHANGIAN; SARIRI, 2018
Serino-proteases	<i>Camellia sinensis</i>	CHEN et al., 2016
Protease aspártica	Estômago de <i>Carangoides bartholomaei</i>	SILVA et al., 2022
Tripsina	Ceco Pilórico do Pirarucu ( <i>Arapaima gigas</i> )	FREITAS-JUNIOR, 2010
Serino-proteases	Morango ( <i>Fragaria ananassa</i> )	ALICI; ARABACI, 2018
Protease aspártica	Orange <i>Citrus aurantium</i> L.	MAZORRA-MANZANO et al., 2013

ção do animal (RAZZAQ, 2019). A Tabela I apresenta as fontes de obtenção e os tipos de proteases.

As proteases são amplamente aplicadas na indústria alimentícia para a melhoria do valor nutricional dos alimentos, além de serem muito utilizadas na produção de bebidas, no amaciamento de carnes, panificação e como coagulantes de proteínas na indústria de laticínios para a fabricação de queijos

(AFSHARNEZHAD; SHAHANGIAN; SARIRI, 2018), conforme apresentado na Tabela II.

## Carboidrases

### Pectinases

As pectinases são utilizadas para uma diversidade de aplicações industriais (Tabela III), atuando no processo de degomagem/

**Tabela II.** Aplicações das proteases na indústria de alimentos

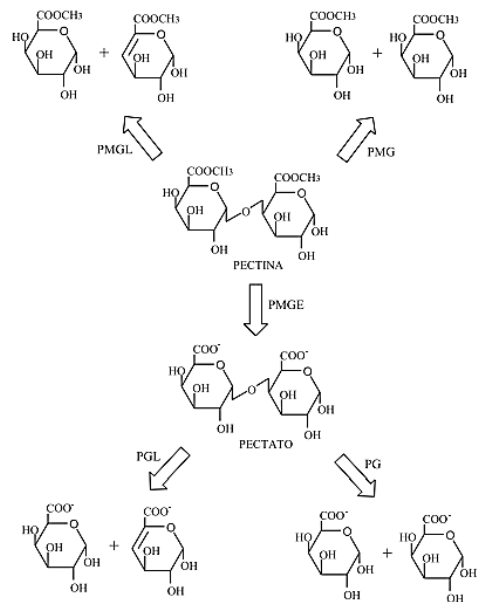
Origem	Aplicação	Referência
<i>Aspergillus oryzae</i>	Hidrólise de proteínas e valorização do conteúdo proteico residual em biomassa	CALZONI et al., 2021
<i>Gammarus bakhtheyaricus</i>	Coagulação do leite para produção de queijos	AZADI et al., 2022
<i>Acremonium sp.</i>	Proteólise de caseinato de sódio bovino e caprino	NASCIMENTO et al., 2021
<i>Colletotrichum sp.</i> , <i>Cladosporium sp.</i> , <i>Alternaria sp.</i> , <i>Phomopsis sp.</i> , <i>Xylaria sp.</i> , <i>Cladosporium xanthochromaticum</i> e <i>Peniophora sp.</i>	Digestão do glúten	GARCIA, 2019
<b>Comercial (protease M: Amano Enzyme, Inc., Nagoya, Japan)</b>	Redução da turbidez e floculação de partículas sólidas na água de drenagem derivada do processo de ebulição do macarrão com farinha de trigo	WATANABE et al., 2021
<b>Peixes neotropicais</b> ( <i>arabaiana Seriola dumerili</i> ); <b>pescada-branca</b> ( <i>Cynoscion leiarchus</i> ); e <b>tucunaré</b> ( <i>Cichla ocellaris</i> )	Produção de peptídeos de colágeno	OLIVEIRA, 2015
<i>Aspergillus oryzae</i> e <i>Aspergillus niger</i>	Coagulação do leite para produção de queijos	RACTZ, 2015
<i>Aspergillus tamarii</i> URM 4634	Amaciamento de Carnes	de ALMEIDA, 2018
<i>Penicillium sp. XT7</i>	Extração de Colágeno	GUO et al., 2021
<b>Flavourzyme</b> ( <i>Aspergillus oryzae</i> ), <b>Alcalase</b> ( <i>Bacillus licheniformis</i> ) e <b>Neutrase</b> ( <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> )	Melhora das propriedades antioxidantes e antidiabéticas das proteínas do feijão comum por hidrólise enzimática	OHARA et al., 2021
<b>Fruto de noni</b> ( <i>Morinda citrifolia</i> )	Extração de óleo de coco virgem	CANDRA; ZAIDAR; REZEKI, 2021

maceração de fibras vegetais em indústrias têxteis (KASHYAP et al., 2001); na despolimerização de pectina nas indústrias de papel e celulose (KHATRI et al., 2015); no tratamento de águas residuais em processadoras de cítricos (HAMTA; DEGHANI, 2017); na produção vinhos, na extração dos sucos, reduzindo a viscosidade da polpa da fruta, auxiliando na filtração e clarificação do produto, para acelerar e inibir a formação de espuma nas fermentações de chá e café (KASHYAP et al., 2001; SAXENA et al., 2008; ZENI et al., 2011; KHAN et al., 2013; ZENI et al., 2020; SOUZA; KAWAGUTI, 2021) e extração de óleos essenciais (RESENDE et al., 2004; OLIVEIRA, 2005; SANTI et al., 2014). São também usadas em consórcio enzimático, para a remoção de biofilmes bacterianos (BORSZCZ et al., 2017b).

As pectinases são classificadas em protopectinases (EC 3.2.1.99), que degradam as protopectinas insolúveis em pectina solúvel polimerizada (TAPRE; JAIN, 2014); esterases (EC 3.1.1.11), que catalisam a desesterificação da pectina removendo metoxi ésteres (pectinametilsterase - PME); e despolimerases, que incluem hidrolases e liases (poligalacturonase – PG, polimetil

galacturonase - PMG, pectina liase – PL, poligalacturonase liase - PGL) que catalisam a clivagem hidrolítica de ligações glicosídicas  $\alpha(1,4)$  no ácido D-galacturônico de substâncias pécnicas (JAYANI et al., 2005; PATIDAR et al., 2018). A (Figura 2) apresenta o mecanismo de ação das pectinases.

Figura 2. Mecanismo de ação das pectinases



Fonte: Uenojo; Pastore (2007)

Tabela III. Aplicações de pectinases em ramos industriais alimentícias

Aplicações	Mecanismo de Ação	Referência
Sucos e vinhos	Melhoria na extração de sucos, clarificação, pigmentos	JAYANI et al., 2005
Remoção de Biofilme Bacteriano	Rompimento da parede celular bacteriana	BORSZCZ et al., 2017
Alimentos	Produção de purês, polpa de frutas, fabricação de iogurtes e pudins, liberação de aroma, compostos prebióticos e ração animal.	KASHYAP et al., 2001
Óleos (Oliva, soja, semente de abóbora e dendê)	Melhoria na extração de óleos essenciais cítricos, extração de agente antioxidante	TEIXEIRA et al., 2013; JIAO et al., 2014
Chá e Café	Acelera e inibe a formação de espuma nas fermentações	RESENDE et al., 2004; OLIVEIRA, 2005

Existem diferentes fontes para a produção de pectinases a mais relevante que oferece as maiores taxas de produtividade são as de origem microbiana (Tabela IV). Pectinases de fontes microbianas apresentam ampla diversidade, maiores velocidades de crescimento em tempos de fermentação curtos e possibilidade de manipulações genéticas (AMIN; BHATTI; BILAL, 2019). Os organismos produtores de enzimas pectinolíticas incluem bactérias, bolores, leveduras, protozoários, insetos e nematoides (FAVELA-TORRES et al., 2005). Comercialmente, fungos filamentosos são a maioria absoluta da fonte dessas enzimas (SANTI et al., 2014) e o *Aspergillus niger* é mais utilizado para produção industrial por ser classificado como GRAS (*generally recognized as safe*) pelo Food and Drug Administration (FDA).

O mercado de pectinases abrange um quarto da produção total de enzimas no mundo. Tendo em vista a grande relevância comercial, juntamente com a diversidade de aplicação e potencial biotecnológico, garante-se, às pectinases, também, uma alta relevância industrial (JOHN et al., 2020).

## Amilases

As amilases são importantes enzimas na indústria, usadas largamente na produção de cerveja e outras bebidas preparadas a partir de açúcares derivados do amido. Utilizadas comercialmente em fermentações, empregadas em diversos processos como hidrólise do amido, obtenção de xarope de milho com alto teor de frutose, maltodextrinas, entre outros (TIWARI et al., 2015; DISHAROON et al., 2020). São classificadas em três tipos em função da forma de atuação nas ligações polissacarídicas:  $\alpha$ -amilase,  $\beta$ -amilase e  $\gamma$ -amilase (GRIEBELER et al., 2015; PATHAK et al., 2015).

A  $\alpha$ -amilase é classificada como endoamilase porque atua catalisando a hidrólise de ligações  $\alpha$ -(1-4) no interior da molécula de amido de forma randômica, liberando dextrinas, glicose, maltose e amilopectina (TIWARI et al., 2015; BRITO, 2017). Tem aplicações mais difundidas na indústria de amido, para hidrólise, no processo de liquefação e para converter o amido em xaropes de glicose e frutose (PATHAK et al., 2015).

**Tabela IV.** Tipos de pectinases e fontes de obtenção

Tipo de enzima	Fonte	Referência
Poligalacturonase	<i>Aspergillus niger</i>	PILI et al., 2015
Pectina liase	<i>Penicillium brasilianum</i>	ZENI et al., 2015
Pectina liase	<i>Aspergillus brasiliensis</i>	PILI et al., 2018
Pectina metilesterase	<i>Aspergillus niger</i>	PILI et al., 2018
Pectina metilesterase	<i>Aspergillus niger</i>	BORSZCZ et al., 2018
Exo-poligalacturonase	<i>Aspergillus niger</i>	BORSZCZ et al., 2017 <sup>a</sup>
Poligalacturonase	<i>Aspergillus brasilianun</i>	ZENI et al., 2020
Pectina metilesterase e Endo-poligalacturonase	<i>Sphenophorus levis</i> (inseto)	HABRYLO et al., 2018

É obtida de diversos fungos, leveduras e bactérias, no entanto, as de origem fúngica e bacteriana têm dominado as aplicações industriais, por serem classificadas como GRAS.

A  $\beta$ -amilase é uma exoenzima que catalisa a hidrólise do amido em glicose, maltose e maltotriose, na extremidade não redutora, por hidrólise da segunda ligação  $\alpha$ -1,4 glicosídica (BRITO, 2017). É determinante nas características da cerveja, produzindo açúcares fermentescíveis, suprimento para a levedura durante a fermentação (GOMES, 2014).

A  $\gamma$ -amilase, glicamilase ou (1,4)-D-glicanglicohidrolase cliva a ligação glicosídica  $\alpha$  (1-6) adicional à ligação  $\alpha$  (1-4) nas extremidades não redutoras de amilose e amilopectina (RAHMAN et al., 2015). As  $\gamma$ -amilases ocorrem em microrganismos e animais, sendo os fungos filamentosos a principal fonte entre os microrganismos. Cepas de *Aspergillus* e *Rhizopus* são usados principalmente para a sua produção comercial (PANDEY, 1995).

## Lactase

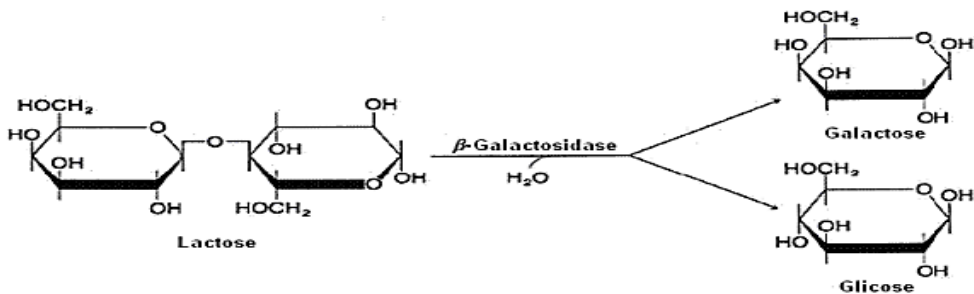
A lactase,  $\beta$ (1,4)-D-galactosidase ou  $\beta$ (1,4)-galactosidase, pertence à classe das hidrolases e é responsável pela hidrólise da lactose em glicose e galactose (Figura 3). Pode ser obtida a partir de microrganismos

como fungos, bactérias e leveduras. Cepas de bactérias produtoras de lactase foram usadas no tratamento de produtos à base de leite, como sorvetes, doce de leite e leite condensado, para melhora da textura, sabor e cor; incorporação de maior cremosidade e diminuição do tempo de maturação de queijos. Essa enzima também pode catalisar reações de transglicosilação da galactose com outros açúcares (lactose, galactose, glicose) por meio de ligações  $\beta$ -1,6, formando oligossacarídeos não usuais (WANG et al., 2021; SUGAWARA et al., 2020; FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010). Na indústria de laticínios, é empregada para obtenção de produtos com baixo teor ou zero lactose (CERONI; VANIN, 2021; SUGAWARA et al., 2020).

## Invertase

A invertase ou  $\beta$ -D-frutofuranosidase é responsável pela hidrólise irreversível da ligação  $\beta$  (1-2) da sacarose, originando quantidades iguais de glicose e frutose (açúcar invertido). Esse produto possui importância comercial em indústrias de alimentos, principalmente na produção de doces e chocolates, em indústrias sucoalcooleiras (produção de etanol), na produção de ácido láctico por meio de um processo fermentativo (ANDRADES, 2014).

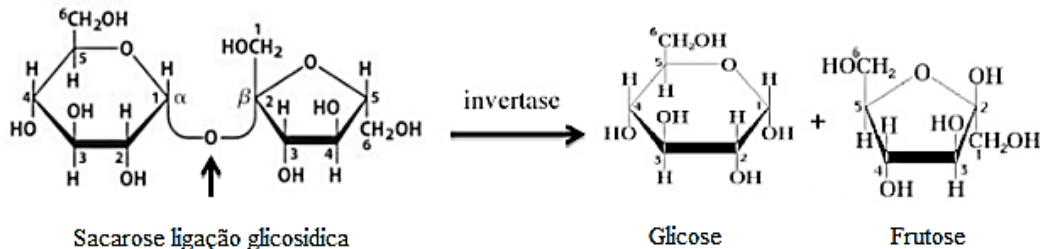
Figura 3. Mecanismo de ação das lactases



Fonte: Fisher (2010)



Figura 4. Mecanismo de ação das invertases



Fonte: Nadeem et al. (2015)

A levedura *Saccharomyces cerevisiae* é a fonte mais significativa de  $\beta$ -frutofuranosidase, comumente conhecida como invertase, pertencente à família GH32 das glicosil hidrolases. A maior quantidade de invertase está localizada no espaço periplasmático da levedura e desempenha um papel fundamental no controle da diferenciação e desenvolvimento celular. Essa enzima é responsável pela clivagem de sacarose produzindo D-glicose e D-frutose sendo utilizada na indústria alimentícia como enzima solúvel ou imobilizada (CAMARGO et al., 2021). As enzimas invertases catalisam a clivagem da sacarose em dois monossacarídeos (glicose e frutose), como pode-se observar na (Figura 4).

## Lipases

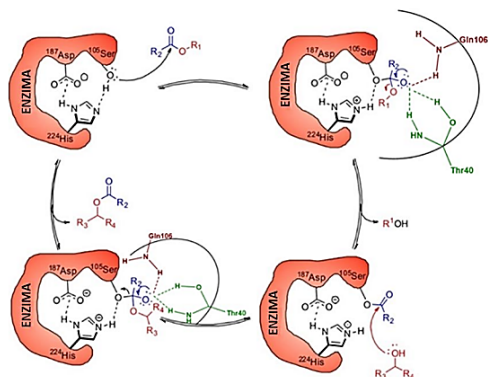
As lipases são enzimas hidrolíticas pertencentes ao grupo das serino hidrolases, responsáveis pela hidrólise de ligações éster-carboxílicas de triacilgliceróis, insolúveis ou parcialmente solúveis em água, de cadeia média a longa (C6 – C22) liberando ácidos graxos e glicerol, mono e diacilglicerol (HASAN; SHAH; HAMEED, 2006; SANTOS; SALGADO; VANETTI, 2021), catalisadoras de reações de esterificação, interesterificação e transesterificação (BORRELLI; TRONO,

2015). Catalisam reações em meios hidrofóbicos e hidrofílicos, sendo ativas na interface hidrofóbica-hidrofílica (GUPTA; GUPTA; RATHI, 2004; SANTOS; SALGADO; VANETTI, 2021).

São classificadas de acordo com a sua especificidade em quatro tipos principais: I) Enantiosseletiva: distingue enantiômeros em uma mistura racêmica; II) Substrato específico: age de forma seletiva sobre um substrato específico em uma mistura de materiais, facilitando a síntese do produto de interesse; III) Regioesletiva: dividida em 1,3 regioespecíficos e 2-regioespecíficos (BORRELLI; TRONO, 2015; VERMA; MEGHWANSHI; KUMAR, 2021).

As 1,3 lipases régio-específicas hidrolisam os ácidos graxos das posições 1 e 3 dos triacilgliceróis, mas não hidrolisam ligações éster em posições secundárias. Já as lipases 2-regioespecíficas liberam os ácidos graxos da posição secundária dos triacilgliceróis, produzindo 1,3-diacilglicerol; IV) Não-específica: hidrolisa triacilgliceróis em ácidos graxos e glicerol, tendo como intermediário mono- e diacilglicerol, podendo hidrolisar o grupo éster em qualquer posição no substrato (SALGADO; VANETTI, 2021). O mecanismo de ação das pectinases é ilustrado conforme a (Figura 5).

**Figura 5.** Mecanismo de reação de transesterificação catalisado por lipase



Fonte: Vega (2020) adaptado de Bandeira et al. (2017)

As lipases vegetais são classificadas da seguinte forma (MUKHERJEE, 1994):

1. Triacilglicerol lipases (EC 3.1.1.3) - catalisam a hidrólise de ligações ésteres de triacilgliceróis, principal constituinte de lipídios do tecido de estocagem presente nas sementes;
2. Acil-hidrolases não específicas - apresentam uma combinação de fosfolipases A1 (EC 3.1.1.32), A2 (EC 3.1.1.4), B (EC 3.1.1.5), glicolipases, sulfolipases e hidrolisam ácidos graxos esterificados em fosfoglicerídios e galactoglicerídios. Estão também nesse grupo as monoacilglicerol lipases, que hidrolisam ácidos graxos esterificados em monoacilgliceróis;
3. Fosfolipase C (EC 3.1.4.3) e D (EC 3.1.4.4) - hidrolisam ligações fosfodiéster entre glicerol e grupamento fosfato, em diferentes posições.

O sítio ativo das lipases é formado pelos resíduos dos aminoácidos serina, histidina e ácido aspártico ou ácido glutâmico (NAKAMURA, 2020; STEFANUCCI et al., 2019). Inicialmente, o aspartato se liga com a histidina por uma ligação de hidrogênio,

aumentando o pKa do nitrogênio da histidina. Em seguida, a histidina forma uma ligação de hidrogênio com a serina, permitindo o ataque nucleofílico do grupo hidroxila da serina ao grupo carboxílico do éster, gerando um intermediário tetraédrico, estabilizado pela cavidade oxianiónica por ligações de hidrogênio com os resíduos de glutamina e treonina. Após a remoção de uma molécula de  $R_1OH$  do substrato, forma-se o complexo acil-enzima que é atacado de forma nucleofílica por uma molécula de água, ou atacado por uma molécula de um álcool, formando outro intermediário tetraédrico, que colapsa para formar o produto, regenerando a enzima (NAKAMURA, 2020; STEFANUCCI et al., 2019).

As lipases podem ser encontradas em tecidos animais e vegetais e sintetizadas por microrganismos (Tabela V). Dependendo da fonte de produção, diferem nas propriedades físicas e bioquímicas, com massa molecular variando de 19 kDa a 75 kDa, pH de atuação de 4,0-9,0 e temperatura, que varia da temperatura ambiente a 70 °C (CORTEZ; CASTRO; ANDRADE, 2017; OLIVEIRA, 2020). Nos animais, podem ser encontradas em vários tecidos e órgãos, como língua, faringe, pâncreas, estômago, responsáveis por degradar a gordura da dieta e envolvidas no metabolismo de lipídios (OLIVEIRA, 2020). Nas plantas, estão em tecidos de reserva de energia (COLLA; REINEHR; COSTA, 2012), como por exemplo nas oleaginosas (amendoim, linhaça, colza, palma, soja, mamona), cereais (aveia, trigo, arroz), látex e em algas marinhas (BORRELLI; TRONO, 2015). As enzimas microbianas ganharam destaque industrial devido à estabilidade em solvente orgânico, quimiosseletividade, enantioseletividade e ausência cofatores (BHARATHI; RAJALAKSHMI, 2019), além de maior disponibilidade, alto rendimento, baixo custo de produção, facilidade de manipulação genética, ausência de flutu-

**Tabela V** – Lipases: origem e aplicações na indústria de alimentos

Origem	Aplicação	Referência
Sementes de mamona	Hidrólise de óleos de alta acidez	MACHADO et al., 2021
<i>Candida antarctica B</i> (Novozym 435 - imobilizada)	Fortificação e estabilização de azeite extra virgem	GUNATHILAKE; AKANBI; BARROW, 2021
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Fermentação de alimentos	ESTEBAN-TORRES et al., 2015
<i>Bacillus licheniformis</i>	Melhoria da liberação de sabor de ácidos graxos para queijos com baixo teor de gordura	ZHAO et al., 2022
<i>Candida rugosa</i>	Síntese de ésteres de sabor	BAYRAMOGLU et al., 2022
Matrizes vegetais maracujá (casca, polpa e semente), manga (casca, semente e polpa), uva (casca e polpa), laranja (casca, bagaço e polpa), limão tahiti (casca e bagaço) e amendoim (grão com casca)	Processamento de ovos (Manutenção das propriedades de formação de espuma de clara de ovo)	DELGADO, 2014
<i>Thermomyces lanuginosus</i> e <i>Fusarium oxysporum</i>	Produção de Biodiesel de óleo de soja bruto	de OLIVEIRA et al., 2022
<i>Anoxybacillus</i> sp.	Aditivo em detergentes	SAHOO et al., 2020
<i>Candida cylindracea (rugosa)</i>	Preparação de merengues a partir de clara de ovo líquida modificada com enzima lipase	ASIK e YUCEER, 2020

ações sazonais e especificidade de substrato (NARASIMHAN; BHIMBA, 2015).

As lipases possuem diversas funções na indústria de alimentos, dentre elas a síntese de emulsificantes (KOLLING, 2010), aditivos (saborizantes) (COLLA; REINEHR; COSTA, 2012; SHARMA; CHISTI; BANNERJEE, 2001), melhoradoras do *flavor* de produtos de arroz, para aprimorar o aroma e reduzir o tempo da fermentação de vinhos de maçã, modificação do leite de soja (HASAN; SHAH; HAMEED, 2006), na hidrólise da gordura do leite, manteiga e creme de leite, melhorando o sabor e na redução do tempo

de maturação de queijos, na produção de produtos “tipo queijos” (queijos de pasta mole, como requeijão, ricotas, entre outros), molhos ou ingrediente (HASAN; SHAH; HAMEED, 2006). Empregadas também na fermentação de embutidos, modificando os ácidos graxos de cadeia longa liberando-os durante a maturação, nos processos de biolipólise em peixes para produção de carne magra (HASAN; SHAH; HAMEED, 2006; KOLLING, 2010) e na panificação, complementa as lipases endógenas de cereais como melhoradoras de massa (FENNEMA; DAMODARAN; PARKIN, 2010).

## Conclusão

Após pesquisa bibliográfica sobre a classificação, fontes de obtenção e aplicação das enzimas amplamente utilizadas na indústria alimentícia, com ênfase nas proteases, carboidrases e lipases, percebe-se a importância nos mais diversos processos e setores da cadeia produtiva, auxiliando na melhoria sensorial e nutricional de produtos, facilitando processos de filtração e clarificação, além da síntese de aromas, hidrólise de gorduras, na panificação e biscoitaria e em produtos lácteos, com

amplo potencial de crescimento em diversos processos industriais.

O emprego de enzimas no setor industrial está de acordo com os princípios da química verde e faz uso de metodologias sustentáveis, tendo como vantagem a sua aplicação em condições brandas de temperatura e pH, além dos altos rendimentos obtidos, sendo que seu uso é considerado seguro por ser um catalisador natural. Porém, um dos desafios em comparação aos catalisadores químicos está relacionado, ainda, com questões de viabilidade econômica, recuperação e reutilização no caso do seu uso “livre” em processos.

## REFERÊNCIAS

- AFSHARNEZHAD, M.; SHAHANGIAN, S. S.; SARIRI, R. A novel milk-clotting cysteine protease from *Ficus johannis*: purification and characterization. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 121, p. 173-182, 2019.
- AGUILAR, J. G. dos S.; SATO, H. H. Microbial proteases: production and application in obtaining protein hydrolysates. **Food Research International**, v. 103, p. 253-262, 2018.
- ALICI, E. H.; ARABACI, G. A novel serine protease from strawberry (*Fragaria ananassa*): Purification and biochemical characterization. **Biological Macromolecules**, p. 1295-1304, 2018.
- AMIN, F.; BHATTI, H. N.; BILAL, M. Recent advances in the production strategies of microbial pectinases - a review, **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 122 p. 1017-1026, 2019.
- ANDRADES, D de. **Hydrolases of fungi isolated from farmed Atlantic Forest in agro-industrial waste**: Production, purification and Enzymatic characterization. 2014. 75 f. Dissertação (Mestrado em Conservação e Manejo de Recursos Naturais) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, 2014.
- ASHKAN, Z.; HEMMATI, R.; HOMAEI, A.; DINARI, A.; JAMLIDOOST, M.; TASHAKOR, A. Immobilization of enzymes on nanoinorganic support materials: An update. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 168, p. 708-721, 2021.
- AZADI, M. A.; HEMMATI, R.; HOMAEI, A.; KHALAJI-PIRBALOUTY, V. A psychophilic caseinolytic aspartic protease from de freshwater amphipod *Gammarus bakhtheyaricus* for application in milk coagulation. **LWT - Food Science and Technology**, v. 11, 2022.
- BANDEIRA, P. T.; Thomas, J. C.; Oliveira, A. R. M.; Piován, L. Lipase-mediated kinetic resolution: An introductory approach to practical biocatalysis. **Journal of Chemical Education**, v. 94, n. 6, p. 800-805, 2017.
- BAPTISTE, J. J. **Amilase e lipase produzidas por fungos de efluente têxtil**: levantamento científico e tecnológico. 2020. 48f. Monografia (Biotecnologia) - Universidade Federal da Integração Latino-Americana Instituto Latino Americano de Ciências da vida e da natureza. Foz do Iguaçu-PR, 2020.

- BHARATHI, D.; RAJALAKSHMI, G. Microbial lipases: An overview of screening, production and purification. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 22, p. 101368, 2019.
- BORSZCZ, V.; BOSCATO, T. R. P.; ANTUNES, A.; ZENI, J.; BACKES, G. T.; VALDUGA, E. Recovery of Pectinase Obtained by Solid-State Cultivation of Agro-Industrial Residues. **Industrial Biotechnology**, v. 13, n. 3, p. 141-148, 2017.
- BORSZCZ, V.; BOSCATO, T. P.; FLACH, J.; CENCE, K.; ZENI, J.; CANSIAN, R. L.; BACKES, G. T.; VALDUGA, E. Bacterial biofilm removal using solid-state-produced enzymes. **Industrial Biotechnology**, v. 13, n. 6, p. 311-318, 2017b.
- BRANDÃO, V. C. M., MEOLA, J., GARCIA, S. B., CANDIDO-DOS-REIS, F. J., POLI-NETO, O. B., NOGUEIRA, A. A., & ROSA-E-SILVA, J. C. Increased Expression Levels of Metalloprotease, Tissue Inhibitor of Metalloprotease, Metallothionein, and p63 in Ectopic Endometrium: An Animal Experimental Study. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 40, p. 705-712, 2018.
- BRITO, R. G. de. **Produção de amilase por *Aspergillus flavus* isolado a partir da mandioca (*Manihot esculenta*)**. 2017. 54f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Amazonas, 2017.
- BORRELLI, G. M.; TRONO, D. Recombinant lipases and phospholipases and their use as biocatalysts for industrial applications. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 9, p. 20774-20840, 2015.
- CALZONI, E.; CESARETTI, A.; TACCHI, S.; CAPONI, S.; PELLEGRINO, R. M.; LUZI, F.; COTTONE, F.; FIORETTO, D.; EMILIANI, C.; DI MICHELE, A. Covalent Immobilization of Proteases on Polylactic Acid for Proteins Hydrolysis and Waste Biomass Protein Content Valorization. **Catalysts**, v. 11, n. 2, p. 167, 2021.
- CAMARGO, G. S. dos. Ação das enzimas celulasas, invertase, pectinase e xilanase na produção de vinhos – uma revisão sistemática da literatura. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 4, n. 5, p.19296-19317, 2021.
- CANDRA, A.; ZAIDAR, E.; REZEKI, T. I. Potential of crude protease from Mengkudu (*Morinda citrifolia*) fruit on extraction of Virgin Coconut Oil. **In AIP Conference Proceedings**, v. 2342, n. 1, p. 100006, 2021.
- CERONI, F. L.; VANIN, A. B. Kinetic study of the enzymes chymosin hydrolases and lactase in bovine milk Brazilian. **Journal of Development**, v. 7, n. 2, p. 19040-19053, 2021.
- CHEN, Y.; FU, X.; MEI, X.; ZHOU, Y.; DU, B.; TU, Y.; YANG, Z. Characterization of functional proteases from flowers of tea (*Camellia sinensis*) plants. **Journal of Functional Foods**, v. 25, p. 149-159, 2016.
- CHINNADURAI, G. S.; KRISHNAN, S.; PERUMAL, P. Studies on detection and analysis of proteases in leaf extract of medicinally important plants. **Phytomedicine**, v. 40, p. 176-188, 2018.
- COLLA, L. M.; REINEHR, C. O.; COSTA, J. A. V. Aplicações e produção de lipases microbianas. **Revista CIATEC**, v. 4, n. 2, p. 1-14, 2012.
- CORTEZ, D. V.; CASTRO, H. F. DE; ANDRADE, G. S. S. Potencial catalítico de lipases ligadas ao micélio de fungos filamentosos em processos de biotransformação. **Química Nova**, v. 40, n. 1, p. 85-96, 2017.
- DENTI, A. F. Tecnologia enzimática: classificação, imobilização, suportes e aplicações. **Revista Perspectiva**, v. 45, n. 171, p. 97-110, 2021.
- DE ALMEIDA, E. M. **Produção e Purificação de Proteases de *Aspergillus tamarii* URM 4634 para Aplicação no Amaciamento de Carnes**. 2018. 67 p. Monografia (Bacharelado em Engenharia de Alimentos) da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Garanhuns, 2018.

- DISHAROON, A.; BOYLES, R.; JORDAN, K.; KRESOVICH, S. Exploring diverse sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) accessions for malt amylase activity. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 127, n. 1, p. 5-12, 2021.
- FAVELA-TORRES E.; AGUILAR, C.; CONTRERAS-ESQUIVEL, J. C.; VINIEGRA GONZÁLEZ, G. Pectinases. **Enzyme Technology**, p. 273-296. 2005.
- FREITAS-JÚNIOR, A. C. V. **Purificação e Caracterização de uma Protease Digestiva Alcalina (Tripsina) do Peixe Amazônico Pirarucu (*Arapaima gigas*)**. 2010. 82 p. Dissertação (Mestrado em Bioquímica e Fisiologia) da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2010.
- FENNEMA, R. O.; DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L. **Química de alimentos**. Artmed, 2010.
- FERNANDES, P. **Enzymatic Processing in the Food Industry**. Elsevier, 2018.
- FISHER, J. **Hidrólise de lactose por  $\beta$ -galactosidade de *Aspergillus oryzae* imobilizada em reator de leito fixo**. 2010. 116 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, da Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia/MG, 2010.
- GARCIA, V. S. **Obtenção de Extratos Enzimáticos Enriquecidos em Proteases a Partir de Fungos Associados a Caules e Folhas de Mandioca Visando a Digestão do Glúten**. 2019. 132 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) do Centro Universitário FEI, São Bernardo do Campo, 2019.
- GRIEBELER, N. E.; de BORTOLI, V.; ASTOLFI, A. L.; DARONCH, N. A.; SCHUMANN, A. C.; SALAZAR, L. N.; CANSIAN, R. L.; BACKES, G. T.; ZENI, J. Seleção de fungos filamentosos produtores de amilases, proteases, celulasas e pectinases. **Revista Acadêmica Ciência Animal**, p. 13-22, 2015.
- GOMES, F.O de. **Beta amilase: Atividade enzimática ao longo de diferentes períodos de repouso**. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes. Pelotas, 2014.
- GUO, Y.; LI, X.; JIA, W.; HUANG, F.; LIU, Y.; ZHANG, C. Characterization of an intracellular aspartic protease (PsAPA) from *Penicillium* sp. XT7 and its application in collagen extraction. **Food Chemistry**, v. 345, 2021
- GUPTA, R.; GUPTA, N.; RATHI, P. Bacterial lipases: an overview of production, purification and biochemical properties. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 64, n. 6, p. 763-781, 2004.
- GURUMALLESH, P.; ALAGU, K.; RAMAKRISHNAN, B.; MUTHUSAMY, S. A systematic reconsideration on proteases. **International journal of biological macromolecules**, v. 128, p. 254-267, 2019.
- HABRYLO, O.; EVANGELISTA, D. E.; CASTILHO, P. V.; PELLOUX, J.; HENRIQUE-SILVA, F. The pectinases from *Sphenophorus levis*: potential for biotechnological applications, **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 112, 2018.
- HAMTA, A.; DEGHANI, M. R. Application of polyethylene glycol based aqueous two phase systems for extraction of heavy metals, **Journal of Molecular Liquids**, v. 231, p. 20-24, 2017.
- HASAN, F.; SHAH, A. A.; HAMEED, A. Industrial applications of microbial lipases. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 39, n. 2, p. 235-251, 2006.
- HETTIARACHCHY, N. S.; FELIZ, D. J.; EDWARDS, J. S.; HORAX, R. The use of immobilized enzymes to improve functionality. **Proteins in food processing**, p. 569-597, 2018.
- HUANG, D.; SONG, Y.; LIU, Y.; QIN, Y. A new strain of *Aspergillus tubingensis* for high activity pectinase production, **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 50, n. 1, p. 53-65, 2019.
- JAYANI, R. S.; SAXENA, S.; GUPTA, R. Microbial pectinolytic enzymes: a review. **Process Biochemistry**, v. 40, n. 9, p. 2931-2944, 2005.

JIAO, J.; LI, Z. G.; GAI, Q. Y.; LI, X. J.; WEI, F. Y.; FU, Y. J.; MA, W. Microwave-assisted aqueous enzymatic extraction of oil from pumpkin seeds and evaluation of its physicochemical properties, fatty acid compositions and antioxidant activities. **Food Chemistry**, v. 147, p. 17-24, 2014.

KASHYAP, D. R.; VOHRA, P. K.; CHOPRA, S.; TEWARI, R. Applications of pectinases in the commercial sector: a review. **Boiresource Technology**, v. 77, p. 215-227, 2001.

KHAN, M.; NAKKEERAN, E.; UMESH-KUMAR, S. Potential application of pectinase in developing functional foods. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 4, p. 21-34, 2013.

KHATRI, B. P.; BHATTARAI, T.; SHRESTHA, S.; MAHARJAN, J. Alkaline thermostable pectinase enzyme from *Aspergillus niger* strain MCAS2 isolated from Manaslu Conservation Area, Gorkha, Nepal, **SpringerPlus**, v. 4, n. 1, p. 1-8. 2015.

KOLLING, D. J. **Caracterização bioquímica de duas lipases mutantes de *Staphylococcus xylosus* e de uma esterase de *Lactobacillus plantarum* imobilizada em polipropileno**. 2010. 78p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.

MAHMOUD A.; KOTB, E.; ALQOSAIBI, A.; AL-KARMALAWY A. A.; AL-DHUAYAN, I. S.; ALABKARI, H. *In vitro* and *in silico* characterization of alkaline serine protease from *Bacillus subtilis* D9 recovered from Saudi Arabia. **Heliyon**, v.7, n. 10, 2021.

MAZORRA-MANZANO, M. A.; MORENO-HERNÁNDEZ, J. M.; RAMÍREZ-SUAREZ, J. C.; de JESÚS TORRES-LLANEZ, M.; GONZÁLEZ-CÓRDOVA, A. F.; VALLEJO-CÓRDOBA, B. Sour Orange *Citrus aurantium* L. flowers: A new vegetable source of milk-clotting proteases. **LWT - Food Science and Technology**, v. 54, n. 2, p. 325-330, 2013.

MEHTA, A.; GULERIA, S.; SHARMA, R.; GUPTA, R. The lipases and their applications with emphasis on food industry. **Microbial Biotechnology in Food and Health**, p. 143-164, 2021.

MUKHERJEE, K. D. Plant lipases and their application in lipid biotransformations; **Progress in Lipid Research**, v. 33, p.165-174, 1994.

MORSHED, M. N.; BEHARY, N.; BOUAZIZI, N.; JINPING, G. U. A. N.; NIERSTRASZ, V. A. An overview on biocatalysts immobilization on textiles: preparation, progress and application in wastewater treatment. **Chemosphere**, v. 279, p. 13081, 2021.

MURUGAN, T.; DEEPIKA, P; KOWSALYA, A.; SIVASUBRAMANIAN, K.; REJISHA, R. P.; M. MURUGAN, M.; WINS, J. A. Production and characterization of extracellular pectinase from a newly isolated *Bacillus* species from fruit waste soil. **Materials Today: Proceedings**, v. 45, p. 2087-2090, 2021.

NADEEM, H.; RASHID, M. H.; SIDDIQUE, M. H.; AZEEM, F.; MUZAMMIL, S.; JAVED, M. R.; ALI, M. A.; RASUL, I.; RIAZ, M. Microbial invertases: A review on kinetics, thermodynamics, physicochemical properties. **Process Biochemistry**, v. 50, n. 8, p. 1202-1210, 2015.

NAKAMURA, A. M. **Estudos funcionais e estruturais de carboxilesterases de *Bacillus licheniformis***. Tese (Doutorado em Física) – Universidade de São Paulo, Instituto de Física de São Carlos, São Carlos, 2020.

NARASIMHAN, V.; BHIMBA, V. Screening of extracellular lipase releasing microorganisms isolated from sunflower vegetable oil contaminated soil for bio-diesel production. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, v. 8, n. 2, p. 427-430, 2015.

NAVEED, M.; NADEEM, F.; MEHMOOD, T.; BILAL, M.; ANWAR, Z.; AMJAD, F. Protease a versatile and ecofriendly biocatalyst with multi-industrial applications: an updated review. **Catalysis Letters**, v. 151, n. 2, p. 307-323, 2021.

- NASCIMENTO, T. C.; MOLINO, J. V. D.; DONADO, P. R.; MONTALVO, G. S.; dos SANTOS, W. L.; GOMES, J. E. G.; SANTOS, J. H. P. M.; da SILVA, R.; SETTE, L. D.; PESSOA JUNIOR, A.; MOREIRA, K. A. Antarctic fungus proteases generate bioactive peptides from caseinate. **Food Research International**, v. 139, 2021.
- OHARA, A.; CASON, V. G.; NISHIDE, T. G.; MIRANDA DE MATOS, F.; de CASTRO, R. J. S. Improving the antioxidant and antidiabetic properties of common bean proteins by enzymatic hydrolysis using a blend of proteases. **Biocatalysis and Biotransformation**, v. 39, n. 2, p.100-108, 2021.
- OLIVEIRA, V. DE M. **Obtenção de Proteases a Partir do Trato Digestivo de Peizes Neotropicais para Aplicação na Produção de Peptídeos de Colágeno**. 2015. 243 p. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) da Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2015.
- OLIVEIRA, F. E. R.; ABREU, C. M. P. D.; ASMAR, S. A.; CORRÊA, A. D.; SANTOS, C. D. D. Firmeza de pêssegos ‘Diamante’ tratados com 1-MCP. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 27, n. 3, p. 366-368, 2005.
- OLIVEIRA, H. S. De. **Efluente oleoso como alternativa para a produção de lipase por fungos**. 2020. 61p. Dissertação (Mestrado em Biologia de Fungos) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2020.
- PANDEY, A. **Glucoamylase Research: An Overview**. Starch. 1995.
- PATHAK, A. P.; JETHALIYA, C. S.; SARSAR, M. S.; JADHAV, S. R. Isolation and characterisation of potential amylase producing strain from the agriculture waste. *International Journal of Advances in Pharmacy*, **Biology and Chemistry**, v. 4, 2015.
- PATIDAR, M.K.; NIGHOJKAR, S.; KUMAR, A.; NIGHOJKAR, A. Pectinolytic enzymes-solid state fermentation, assay methods and applications in fruit juice industries: a review, **3 Biotech**, v. 8, n. 4, p. 1-24, 2018.
- PILI, J.; DANIELLI, A.; NYARI, N. L.; ZENI, J.; CANSIAN, R. L.; BACKES, G. T.; VALDUGA, E. Biotechnological potential of agro-industrial waste in the synthesis of pectin lyase from *Aspergillus brasiliensis*. **Food Science and Technology International**, v. 24, n. 2, p. 97-109, 2018.
- PILI, J.; VARGAS, C. E. B.; ORO, C. E. D.; TONIAZZO BACKES, G.; VALDUGA, E.; ZENI, J. Synthesis of pectin methylesterase from *Aspergillus niger* in submerged fermentation using as citrus pectin and orange peel as inducers. **Industrial Biotechnology**, v. 14, n. 4, p. 212-221, 2018.
- PURUSHOTHAMAN, K.; BHAT, S. K.; SIDDAPPA, S.; SINGH, S. A.; SUBBAIAH, R.; MARATHE, G. K.; RAO, A. R. G. A. Aspartic protease-pepstatin An interactions: Structural insights on the thermal inactivation mechanism. **Biochimie**, v. 189, p. 26-39, 2021.
- RACTZ, J. V. B. **Produção e Aplicação de Proteases dos Fungos *Aspergillus oryzae* e *Aspergillus niger***. 2015, 65 p. Monografia (Bacharelado em Farmácia) da Universidade de Brasília, Brasília, 2015.
- RAZZAQ, A.; SHAMSI, S.; ALI, A.; ALI, Q.; SAJJAD, M.; MALIK, A.; ASHRAF, M. Microbial proteases applications. **Bioengineering and Biotechnology**, v. 7, p. 1-20, 2019.
- RESENDE, J. M.; CHITARRA, M. I. F.; MALUF, W. R.; CHITARRA, A. B.; SAGGIN JÚNIOR, O. J. Atividade de enzimas pectinametilesterase e poligalacturonase durante o amadurecimento de tomates do grupo multilocular. **Horticultura Brasileira**, v. 22, n. 2, p. 206-212, 2004.
- RIGO, D.; GAYESKI, L.; TRES, G. A.; CAMERA, F. D.; ZENI, J.; VALDUGA, E.; CANSIAN R. L.; BACKES, G. T. Produção Microbiológica de Enzimas: uma Revisão. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 1, p. 9232-9254, 2021.



- SANTI, L.; BERGER, M.; SILVA, O.B. W. **Pectinases e pectina: aplicação comercial e potencial biotecnológico.** (Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Programa de Pós-Graduação Mestrado em Biotecnologia), v. 11, n. 1, p. 130-139. UNIVATES, Lajeado, RS, Brasil, 2014.
- SANTOS, C. I. A. dos; SALGADO, C. A.; VANETTI, M. C. D. Lipases bacterianas: impactos na qualidade de produtos lácteos e potencial biotecnológico. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 13, 2021.
- SAXENA, S.; SHUKLA, S.; THAKUR, S.; GUPTA, R. Immobilization of polygalacturonase from *Aspergillus niger* onto activated polyethylene and its application in apple juice clarification. **Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica**, v. 55, n. 1, p. 33-51, 2008.
- SHARMA, R.; CHISTI, Y.; BANERJEE, U. C. Production, purification, characterization and applications of lipases (Research review paper). **Biotechnology Advances**, v. 19, p. 627-662, 2001.
- SHARMA, K. M.; KUMAR, R., PANWAR, S.; KUMAR, A. Microbial alkaline proteases: Optimization of production parameters and their properties. **Journal of Genetic Engineering and Biotechnology**, v. 15, p. 115-126, 2017.
- SILVA, O. S.; GOMES, M. H. G.; de OLIVEIRA, R. L.; PORTO, A. L. F.; CONVERTI, A.; PORTO, T. S. Novel Protease from *Aspergillus tamari* URM4634: Production and characterization using inexpensive agroindustrial substrates by solid state fermentation. **Advances in Enzyme Research**, v. 4, p. 125-143.
- SILVA, M. K. S.; SILVA, T. A.; SILVA, J. A. F.; COSTA, L. D. A.; LEAL, M. L. E.; BEZERRA, R. S.; COSTA, H. M. S.; FREITAS-JÚNIOR, A. C. V. *Carangoides bartholomaei* (Cuvier, 1833) stomach: a source of aspartic protease for industrial and biotechnological applications. **Brazilian Journal of Biology**, v. 82, 2022.
- SILVA, M. Z. R. **Potencial Biotecnológico de uma Protease Cisteínica do Látex de *Calotropis procera* para Produção de Queijo.** 2019. 96 p. Tese (Doutorado em Bioquímica) - Programa de Pós-Graduação em Bioquímica, da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2019.
- SOUZA, L. T.; VERÍSSIMO, L. A.; PESSELA, B. C.; SANTORO, R. R.; RESENDE, R. R.; MENDES, A. A. Imobilização enzimática: princípios fundamentais e tipos de suporte. In: RESENDE, R. R. **Biotecnologia Aplicada à Agroindústria: Fundamentos e Aplicações**, v. 4. Editora Blucher, 2017.
- SOUZA, P. M.; WERNECK, G.; ALIAKBARIAN, B.; SIQUEIRA, F.; FERREIRA FILHO, E. X.; PEREGO, P.; CONVERTI, A.; MAGALHÃES P. O.; PESSOA JUNIOR, A. Production, purification and characterization of an aspartic protease from *Aspergillus foetidus*. **Food and Chemical Toxicology**, v. 109, p. 1103-1110, 2017
- STEFANUCCI, A.; DIMMITO, M. P.; ZENGIN, G.; LUISI, G.; MIRZAIE, S.; NOVELLINO, E.; MOLLICA, A. Discovery of novel amide tripeptides as pancreatic Lipase inhibitors by virtual screening. **New Journal of Chemistry**, v. 43, n. 7, p. 3208-3217, 2019.
- SUGAWARA, A.; HORIGUCHI, H.; YOSHIKAWA, J. Identification and characterization of proteinase B as an unstable factor for neutral lactase in the enzyme preparation from *Kluyveromyces lactis*. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 131, n. 1, p. 20-26, 2021.
- SURIYA, J.; BHARATHIRAJA, S.; KRISHNAN, M.; MANIVASAGAN, P.; KIM, S. K. Marine Microbial Amylases: Properties and Applications. **Advances in Food and Nutrition Research**, v. 79, 2016.
- TEIXEIRA, C.B.; MACEDO, G. A.; MACEDO, J. A.; DA SILVA, L. H. M.; RODRIGUES, A. M. D. C. Simultaneous extraction of oil and antioxidant compounds from oil palm fruit (*Elaeis*

- guineensis*) by an aqueous enzymatic process. **Bioresource Technology**, v. 129, p. 575-581, 2013.
- THAKUR, N.; GOYAL, M.; SHARMA, S.; KUMAR, D. Proteases: Industrial applications and approaches used in strain improvement. **Biological Forum—An International Journal**, v. 10, n. 1, p. 158-167, 2018.
- TIWARI, S. P.; SRIVASTAVA, R.; SINGH, C. S.; SHUKLA, K.; SINGH, R. K.; SINGH, P.; SINGH, N. L.; SHARMA, R. Amylases an overview with special reference to alpha amilase. **Journal of Global Biosciences**, v. 4, p. 1886 -1901, 2015.
- UENOJO, M.; PASTORE, G. M. Pectinases: aplicações industriais e perspectivas. **Química Nova**, v. 30, p. 388-394, 2007.
- VEGA, K. B. **Síntese quimioenzimática do apremilast usando lipases e cetorredutases**. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal do Paraná, Fortaleza, 2020.
- WANG, Z.; QI, J.; GODDARD, J. M. Concentrated sugar solutions protect lactase from thermal inactivation. **International Dairy Journal**, v. 123, p. 105168, 2021.
- WATANABE, M.; CHAIYASO, T.; TECHAPUN, C.; SHIONO, T.; HOSHINO, T.; NAKAMURA, K.; TAKENAKA, S.; ISAMU, M.; NABESHIMA, T.; NISHIZAWA, T. Effect of protease addition for reducing turbidity and flocculation of solid particles in drainage water derived from wheat-flour noodle boiling process and its electrostatic properties. **Water Resources and Industry**, v. 25, 2021.
- XIE, J.; ZHANG, Y.; SIMPSON, B. Food Enzymes Immobilization: Novel Carriers, Techniques and Applications. **Food Science**, v. 43, p. 1-9, 2022.
- ZENI, J.; CENCE, K.; GRANDO, C. E.; TIGGERMANN, L.; COLET, R.; LERIN, L. A.; CANSIAN, R. L.; TONIAZZO, G.; OLIVEIRA, D.; VALDUGA, E. Screening of Pectinase-Producing Microorganisms with Polygalacturonase Activity. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 163, p. 383-392, 2011.
- ZENI, J.; AMBROZINI, E.; PILI, J.; CENCE, K.; TONIAZZO BACKES, G.; VALDUGA, E. Production and characterization of *Penicillium brasilianum* pectinases with regard to industrial application. **Biocatalysis and Biotransformation**, v. 33, n. 5-6, p. 270-278, 2015.
- ZENI, J., RIGO, D., MUI, T. S., DUARTE, F. R., TREICHEL, H., BACKES, G. T., CANSIAN, R. L.; VALDUGA, E. Synthesis and potential application of polygalacturonase from a *Penicillium brasilianum* isolate. **Acta Scientiarum. Technology**, v. 42, p. 48042-48042, 2020.
- ZHANG, Y. Y.; RUI, X.; SIMPSON, B. K. Trends in nanozymes development versus traditional enzymes in food science. **Food Science**, v. 37, p. 10-16, 2020.