

GALACTOLIGOSSACARÍDEOS: RELEVÂNCIA E ASPECTOS TECNOLÓGICOS EM PRODUTOS LÁCTEOS

Ramon Silva^{1,2}, Tatiana C.Pimentel³, Eliane T. Mársico²,
Erick A. Esmerino², Mônica Q Freitas², Adriano G. Cruz¹

Indexação Científica - ISSN 1678-7250

¹IFRJ, Departamento de Alimentos, ²UFF, Faculdade de Medicina Veterinária, ³IFPR, Paranavai, PR

1.Introdução

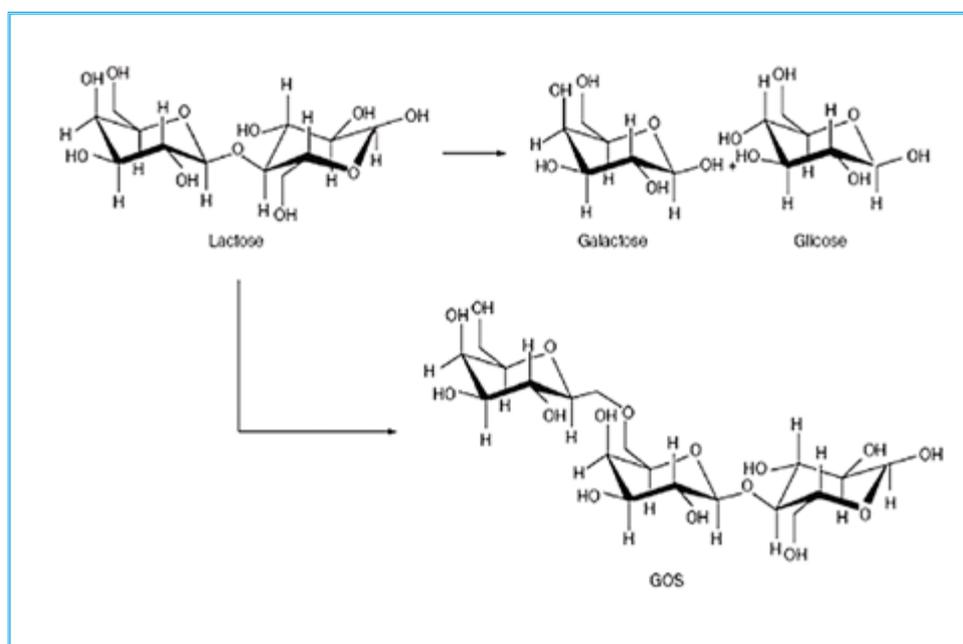
Prebióticos são ingredientes que são seletivamente utilizados por microrganismos probióticos e conferem benefícios a saúde do consumidor. O lugar das ação dos prebióticos não esta relacionado apenas ao intestino mais pode abranger também a cavidade oral, a pela e trato urogenital (Gibson et al., 2017). Os prebióticos são compostos digeríveis, muitos deles derivados dos carboidratos, principalmente das fibras que estão presentes em alimentos naturais, são exemplos os fruto-oligossacarídeos (FOS), Xiloligossacarídeos (XOS), Galactoligossacarídeo (GOS) e a inulina, entre outros. Estes alimentos servem de combustível para os microrganismos de ação positiva que colonizam trato gastrointestinal (TGI), eles impedem a fixação das bactérias patogênicas do intestino, estimulando o seu sistema imune, proporcionando grandes benefícios a microbiota intestinal. (Farias et al. 2019).O mercado global de prebióticos foi avaliado em 6,05 bilhões de dolartes em 2021 sendo esperado um crescimento anual de 14.9 de 2022 a 2030 (Market Research Future, 2024), demonstrando sua importância no vasto ramo de alimentos funcionais.

Produtos lácteos possuem uma reputação positiva na memória do consumidor e constituem-se matrzes alimentícias ideais para a adição de prebióticos em sua formulação, mudando de forma favorável as características tecnológicas e sensoriais do produto além dos intrínsecos parâmetros de qualidade (Rosa et al. 2021). Neste sentido o objetivo deste trabalho é apresenta uma breve revisão do impacto da adição de galactoligossacerídeo, em produtos lácteos, além de comentar suas características estruturais e benefícios a saúde envolvidos.

2.Galato-oligossacarídeos (GOS)

Os galato-oligossacarídeos (GOS) são os oligossacarídeos mais produzidos ao redor do mundo. A produção comercial é realizada utilizando uma solução altamente concentrada de lactose, por meio da atividade de transgalactosilação da enzima β -galactosidase. A enzima β -galactosidase é igualmente responsável pela reação de hidrólise da lactose, formando galactose e glicose (Cruz et al. 2020). A figura 1 mostra a rota de produção do GOS:

Figura 1.
Rotas enzimáticas de conversão da lactose por Galactoligossacarídeo, utilizando a β - galactosidase.





GOS quando são digeridos por seres humanos ou animais e são seletivamente usados pela microbiota benéfica presente no intestino, levando a seu aumento quantitativo (Macfarlane et al., 2008), aumentando a resistência contra colonização de bactérias patogênicas e decrescendo o risco de infecções intestinais, com efeito adição de aumentar a produção de ácidos graxos de cadeia curta e melhorar a absorção de minerais (Sangwan et al. 2011).

Os GOS tem uma história de uso seguro em alimentos e fórmulas infantis, sendo aplicados em uma diversidade de produtos. Isso se deve ao fato de que os Eles são altamente solúveis em água e estáveis a processos tecnológicos como a pasteurização e a esterilização, assim como, a condições ambientais ácidas. A estabilidade a baixos pHs faz com que seja possível sua aplicação em sucos de frutas e iogurtes. A estabilidade de GOS a temperaturas de 160oC por 10 min em pH neutro ou 120oC por 10 min em pH 3. Em pH 2 são resistentes a temperaturas de até 100oC por 10 min. (Sangwan et al., 2011). Como qualquer prebiótico, a dosagem ótima de ingestão é dependente da matrix alimentícia no qual ele esta adicionado e deve ser avaliada baseada no esperado efeito a saúde, confirmado por estudos in vitro e em vivo, com modelo animal e com seres humanos (Rosa et al. 2021).

A dosagem de GOS varia de acordo com o produto, sendo encontrados, normalmente, 0,8 g/100 mL em fórmulas infantis até 5 g/100 mL em produtos lácteos funcionais. Em fórmulas infantis sua função é mimetizar as funções biológicas dos oligossacarídeos que são comumente encontrados em leites maternos (Cruz et al., 2020).

3 Galato-oligossacarídeos em produtos lácteos

Conforme mencionado anteriormente, os ingredientes prebióticos pode levar a um efeito positivo nos parâmetros de qualidade dos produtos lácteos, seja por sua adição como suplemento na formulação final do produto, como na substituição parcial de gordura e açúcar (Cruz et al., 2020). Poucos são estudos em produtos lácteos que tem utilizado GOS em sua formulação indicando o potencial que existe na sua aplicação.

Adição de GOS em sorvetes de baunilha não apresentou efeito nos parâmetros de qualidade do produto, com derretimento e cor além de aumentar a aceitação sensorial do produto (Balthazar et al., 2015). Recentemente foi demonstrado que o GOS adicionado em bebida láctea de chocolate apresentou estabilidade a tecnologia do aquecimento ôhmico, sugerindo que pode ser usado na formulação de produtos lácteos funcionais submetidos a tecnologias não convencionais (Silva et al. 2023).

De fato, estudos adicionais são bem vindos em diversas matrizes lácteas como queijos, manteigas, leites de consumo para confirmação dos resultados obtidos e conferir aspectos positivos na adição dos gos nesses produtos determinado a dosagem ótima a ser adicionada. Nesse contexto abre-se uma enorme possibilidade de diversificação de produtos lácteos.

3 Conclusão

Galato-oligossacarídeos (GOS) representam uma possibilidade de inovação no campo de produtos lácteos funcionais e devem ser considerados pelas indústrias que tem como consumidor final, cada vez mais consciente e preocupado com a saúde. Estudos adicionais devem ser necessários para determinar a dosagem ótima de GOS em cada produto lácteo que ser adicionado bem como uso de métodos de produção que atendam a química verde, sem prejudicar o meio ambiente.

Referencias:

Balthazar, C. F., et al. (2015). Effect of galactooligosaccharide addition on the physical, optical, and sensory acceptance of vanilla ice cream. *Journal of Dairy Science*, 98, 4266e4272.

Cruz, A.G. (2020). *Processamento de Produtos Lácteos*, Elsevier: Rio de Janeiro.

Farias, D.P. (2019). Prebiotics: Trends in food, health and technological applications, *Trends in Food Science and Technology*, 93, 23-35.

Gibson, G. R., et al. (2017). Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 14, 491e502.

Market Research Future (2024). *Market Research Future. Prebiotics Market Size, Share & Trends Analysis Report By Ingredients (FOS, Inulin, GOS, MOS), By Application*. Disponível em: <https://www.marketresearchfuture.com>. Acessado em 13/03/2024.

Rosa et al. (2021). Dairy products with prebiotics: An overview of the health benefits, technological and sensory properties. *International Dairy Journal* 117, 105009

Sangwan, V. (2011). Galactooligosaccharides: Novel Components of Designer Foods. *Journal of Food Science*, 73, 103-11.

Silva, R. et al. (2023). Thermal stability of galactooligosaccharide is not affected by ohmic heating in prebiotic chocolate-flavoured whey dairy beverage. *Proceedings of the 15th SLACAN - Latin American Symposium on Food Science and Nutrition*. Campinas: Brazil. Disponível em: <https://proceedings.science/slacan-2023/papers/thermal-stability-of-galactooligosaccharide-is-not-affected-by-ohmic-heating-in?lang=en>



EFEITOS DA FOSFOLIPASE NO RENDIMENTO DE QUEIJOS: UMA REVISÃO

Marina Corrêa Brito^{2*}, Alessandra Pereira Sant Anna Salimena¹, Leticia Scafutto de Faria¹, Junio César Jacinto de Paula¹, Marco Antônio Moreira Furtado², Denise Sobral¹, Renata Golin Bueno Costa¹

¹Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais/Instituto de Laticínios Cândido Tostes EPAMIG/ILCT

Indexação Científica - ISSN 1678-7250

²Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados / UFJF

Durante a fabricação de queijos parte dos componentes do leite é retida na coalhada, principalmente gordura e proteínas (caseína); e outra parte é perdida no soro (água, lactose, soro proteínas e minerais). Portanto, o rendimento pode ser definido como a recuperação de gordura e proteína do leite para o queijo (coalhada), ou ainda como a quantidade em litros de leite para obtenção de um quilograma de queijo (VILELA, 2017).

O rendimento econômico, normalmente expresso em litros de leite por quilo de queijo produzido é um indicador importante, principalmente na determinação de custo de produção. O rendimento de fabricação é considerado como o principal indicador de eficiência e de viabilidade econômica de um processo de fabricação, sendo utilizado como ferramenta para avaliar a necessidade de mudança tecnológica de um procedimento de fabricação (BUZATO, 2011; FOX, McSWEENEY, 1998).

Já o rendimento técnico, expresso em litros ou quilos de leite gasto por quilo de queijo produzido, é mais amplo e leva em consideração: a composição inicial do leite, composição do soro e a transferência dos constituintes do leite para o queijo (COELHO et al, 2014).

Alguns fatores influenciam diretamente o rendimento na fabricação de queijos, entre eles destacam-se:

- Composição do leite: a concentração de proteínas e gordura no leite tem papel fundamental na definição de rendimento. Em relação às proteínas a parcela mais relevante é a caseína, que é a fração coagulável da proteína do leite, devido a presença da κ -caseína. Durante a coagulação forma-se o paracaseinato de cálcio, responsável por reter os demais componentes na coalhada (água, lactose e sais). A concentração de gordura também influi no rendimento, sendo um maior teor de gordura responsável por maior retenção de soro durante a fabricação no tanque (PAULA, CARVALHO, FURTADO, 2009).
- Composição do queijo: naturalmente quanto maior o teor de água (umidade) maior será o rendimento. Entretanto, é importante observar o percentual de umidade na massa, pois isso influenciará de maneira definitiva o tempo de validade de um queijo (sendo mais reduzido para os queijos com maior umidade, isto é, com maior atividade de água). O controle de umidade é também importante para

os queijos que passam por processo de maturação, já que podem ocasionar características indesejáveis no produto dependendo do teor de umidade final na massa (FURTADO, 2005; BUZATO, 2011).

- Corte da coalhada e mexedura da massa: durante esse processo, ocorre corte do gel formado (coalhada) e a sinérese. A velocidade de corte e o tamanho dos grãos, a intensidade e a temperatura durante a mexedura da massa influenciam no rendimento do queijo. Se realizados de maneira inadequada, pode haver perda excessiva de finos para o soro e conseqüentemente perdas no rendimento final (FURTADO, 2005).

- Resfriamento do leite: Durante o processo de resfriamento do leite, dependendo da temperatura e tempo de exposição ao frio, ocorre a dissociação das caseínas, especificamente a κ -caseína, solubilização do fosfato de cálcio coloidal e diminuição no tamanho das micelas. Todos estes efeitos contribuem negativamente para o rendimento na fabricação de queijos (COSTA et al, 2014).

- Contagem de células somáticas (CCS): o aumento da CCS tem sido associado a alterações físico-químicas do leite. Observa-se diminuição da concentração de caseína e aumento na atividade proteolítica e lipolítica do leite com alta CCS. Na produção de queijo, o leite com alta CCS pode levar a formação de gel (coalhada) mais frágil, o que possibilita a perda de caseína, gordura e sólidos totais (finos) para o soro, reduzindo, assim, o rendimento (CASTRO, 2014)

- Tipo de coagulante utilizado: a coagulação enzimática do leite para fabricação de queijos envolve modificação da micela de caseína pela quebra da ligação peptídica entre os aminoácidos fenilalanina e metionina na posição 105 e 106 da κ -caseína (ligação Phe 105 – Met 106). Esta hidrólise é provocada pelas enzimas (proteases) do coelho ou de coagulantes, seguida pela agregação, favorecida pelo cálcio, dessas micelas alteradas, para formação do gel ou coalhada. Algumas dessas proteases são mais proteolíticas do que outras, como por exemplo as proteases de origem fúngica dos chamados "coagulantes microbianos". Essas enzimas têm menor especificidade e são mais proteolíticas, portanto, além de hidrolisarem a ligação



peptídica 105-106 da κ -caseína, seus resíduos continuam degradando peptídeos ao longo da produção e maturação de queijos. Além de perdas em rendimento, devido a não especificidade do coagulante, a sua característica proteolítica pode produzir peptídeos que conferem sabor amargo, causando danos à qualidade final do produto (FOX, McSWEENEY, 1998).

- Tipo de tratamento térmico: o aquecimento prolongado do leite a temperaturas acima de 75°C por 15 a 20 segundos, pode levar a maior desnaturação de soro-proteínas, que se ligam à κ -caseína, dificultando a ação do coagulante. A agregação de soro-proteínas desnaturadas à caseína, pode levar à retenção de maior teor de água na coalhada, aumentando o rendimento. Porém, nestes casos, o maior teor de água retido no coágulo pode levar a defeitos como perda de fatiabilidade e sabor amargo mais precocemente (FOX, McSWEENEY, 1998).

Lipídeos do leite

O leite é um fluido biológico, secretado pelas fêmeas de mamíferos. Sua composição é bastante variável, dependendo principalmente da espécie, raça, alimentação e estágio de lactação do animal. A concentração de lipídeos no leite pode oscilar bastante de acordo com a espécie, tendo o leite de vaca, em média, 3,5% de gordura. Os demais componentes são água (87%), lactose (4,5%), proteínas (3,2%), minerais (0,8%) e vitaminas (0,1%) (FOX, McSWEENEY, 1998; ELLOLY, 2011).

Embora o leite aparente ser um líquido homogêneo, apresenta-se como uma mistura bastante complexa. Do ponto de vista físico-químico o leite apresenta-se em três fases: uma parte em solução aquosa, outra organizada num sistema coloidal e uma terceira parte como emulsão. A maior parte da massa do leite apresenta-se como uma solução aquosa de lactose, vitaminas e sais inorgânicos e orgânicos. Na solução aquosa estão também dispersas proteínas de menor tamanho. As proteínas mais complexas se apresentam como coloides (como exemplo as caseínas). Os lipídeos estão dispersos como uma emulsão de glóbulos de gordura com diâmetro variando entre 0,1 a 20 μ m (COSTA, FLORES, GIGANTE, 2009).

A gordura está presente na forma de glóbulos, constituídos por um núcleo, composto principalmente de triglicerídeos protegidos por uma membrana lipoprotéica. A maioria dos ácidos graxos encontrados no leite, tanto os saturados como os insaturados, contém em suas cadeias de 2 a 20 átomos de carbono. Outros lipídios presentes no leite são: fosfolipídios, colesterol, ácidos graxos livres, mono e diglicerídios (MANSOON, 2008; FOX, McSWEENEY, 1998).

A gordura presente no leite é sintetizada como pequenos glóbulos no retículo endoplasmático das células secretoras localizadas nas glândulas mamária. Nesse processo, algumas mi-

crogotas de gordura se fundem no citoplasma e aumentam de tamanho até serem liberadas para o lúmen alveolar (COSTA, FLORES, GIGANTE, 2009).

A liberação dos glóbulos de gordura do leite se dá através da membrana apical da célula, sendo, portanto, os glóbulos cobertos por uma membrana externa derivada da própria membrana da célula mamária. Essa membrana possui uma função importante: impedir a coalescência dos glóbulos e também proteger os glóbulos de gordura da ação de enzimas lipolíticas nativas do leite sobre os lipídios contidos no interior do glóbulo (ELLOLY, 2011).

Fosfolipídeos do leite

Os fosfolipídeos representam menos de 1% dos lipídios totais do leite. Embora quantitativamente tenham baixa contribuição no teor total de lipídios no leite, os fosfolipídios exercem papel particularmente importante na estabilização da gordura do leite evitando a coalescência. Os fosfolipídios são encontrados principalmente na membrana do glóbulo de gordura do leite, com estrutura semelhante à da membrana apical das células secretoras de leite nos mamíferos. Fosfolipídios são moléculas com duas ligações éster ligadas a ácido carboxílico e duas ligações éster ligadas a grupos fosfato (Figura 1).

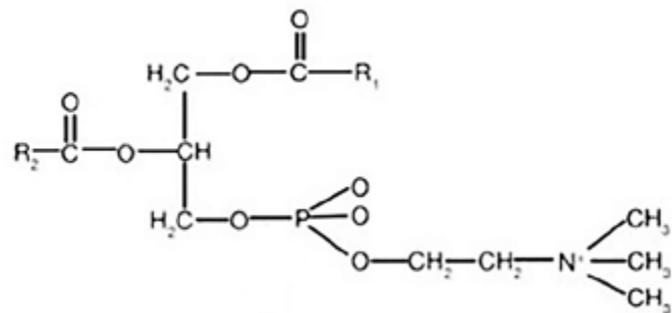


Figura 1

Imagem adaptada de Esteves (2017) que mostra a estrutura geral da molécula de fosfolipídio. Onde R1 e R2 representam cadeias de carbono.

A estrutura se divide basicamente em quatro porções: uma molécula de glicerol, constituída de três carbonos. A esta molécula de glicerol se ligam os outros três componentes: um ácido graxo apolar ligado ao glicerol por uma ligação éster, outro ácido graxo ligado ao glicerol via ligação éster, e um grupo fosfato ligado ao glicerol por ligação éster (FICKERS, DESTAIN, THONART, 2008).

Os principais fosfolipídeos são a fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina e esfingomielina (Tabela 1).



Tabela 1.

Fosfolipídios no leite de diferentes espécies: % molar de cada tipo relativo ao total de fosfolipídeos presentes.

Espécie	Fosfolipídio					
	Fosfatidil-Colina	Fosfatidil-etanolamina	Fosfatidil-serina	Fosfatidil-inositol	Esfingomielina	Lisofosfolipídeos
Vaca	34,5	31,8	3,1	4,7	25,2	0,8
Ovelha	29,2	36,0	3,1	3,4	28,3	-
Humano	27,9	25,9	5,8	4,2	31,1	5,1
Cabra	25,7	33,2	6,9	5,6	27,9	0,5

Adaptado de: FOX, McSWEENEY, 1998.

Os fosfolipídeos tem papel importante na tecnologia de laticínios devido à sua característica anfifílica. Possuem ação emulsificantes e capacidade de estabilizar emulsões (TURCOT, TURGEON, ST-GELAIS, 2001).

Na tecnologia de fabricação de sorvete, que é um produto caracterizado por se apresentar como espuma e emulsão, tem-se uma mistura de cristais de gelo e água líquida, que acontece, em parte, devido à presença de fosfolipídeos. A presença dos fosfolipídios no sorvete está relacionada também ao aumento de volume no produto (CASADO et al, 2012).

Na produção de leite em pó utilizando-se a tecnologia spray-dryer, a camada de fosfolipídios recobre as partículas de pó, aumentando sua estabilidade ao aquecimento (FOX, McSWEENEY, 1998).

Na produção de manteiga, os fosfolipídeos estão relacionados à separação de fase durante a etapa de bateção (CASADO et al, 2012).

No creme de leite, os fosfolipídios exercem papel importante na cristalização da gordura do leite, tendo impacto nos aspectos tecnológicos e sensoriais (KARAHAN, AKIN, 2017).

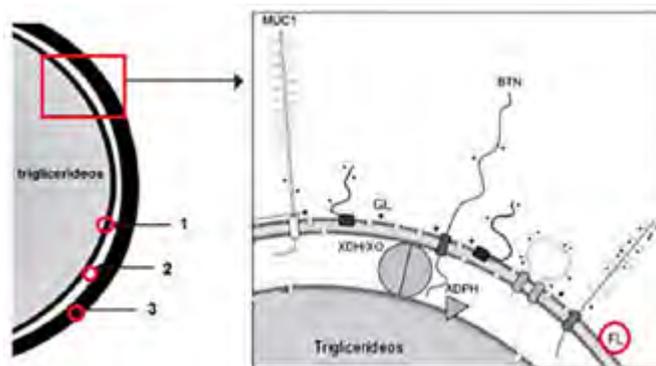
Membrana do glóbulo de gordura do leite

A membrana do glóbulo de gordura do leite (MGGL) consiste em uma complexa camada formada em sua grande parte por lipídeos e proteínas (membrana lipoproteica). No esquema, representado na Figura 2, a MGGL está representada da camada mais interna para a mais externa (VANDERGHEM et al, 2010).

Primeiramente tem-se uma monocamada composta por lipídios polares e proteínas envolvendo a gota de gordura, em seguida uma cobertura proteica e, finalmente, uma bicamada fosfolipídica (com lipídios polares e proteínas). A composição e estrutura é constituída por cerca de 25% de proteínas, principalmente glicoproteínas, e 70% de lipídios, destes em torno de 55-70% são lipídios neutros e 40% lipídios polares (COSTA, FLORES, GIGANTE, 2009).

Variações encontradas na literatura quanto à composição e à estrutura da MGGL refletem os diversos fatores que influen-

ciam essas características, os quais incluem: espécie de animal, raça, estágio de lactação, alimentação, e a 23 frequência de ordenha. Outras alterações estão relacionadas à qualidade microbiológica do leite; ao tipo de resfriamento, se houve ou não congelamento, danos mecânicos causados principalmente por bombeamento, tratamento com alta pressão, tratamento térmico e homogeneização (VANDERGHEM et al, 2010).

**Figura 2.**

Esquema representativo dos principais componentes da membrana do glóbulo de gordura do leite.

Adaptado de: ELLOLY, 2011

Números: 1: monocamada interna; 2: camada intermediária; 3: bicamada externa. Siglas: ADPH – adipofilina, MUC1: mucina; BTN: butirofilina; XDO/XO – xantina desidrogenase/xantina oxidase; GL-glicolipídios; FL – fosfolipídeos Lipases

Lipases (triacilglicerol acil-hidrolases; EC: 3.1.1.3) são enzimas difundidas extensamente na natureza e estão presentes nos animais, vegetais e microrganismos (ARAVINDAN, ANBUMATHI, VIRUTHAGIRI, 2006).

As lipases formam uma família heterogênea de enzimas que têm como função biológica catalisar a hidrólise de triglicerídeos de ácidos graxos de cadeia longa em glicerol e seus ácidos graxos correspondentes. (DE MARIA, 2007). Essas enzimas foram descobertas no início do século XX como substâncias produzidas por bactérias como *Serratia marcescens* e *Pseudomonas fluorescens*. Mas apenas na década de 1950 é que houve novas descobertas através de estudos com lipase pancreática de origem suína (FICKERS, DESTAIN, THONART, 2008).

A reação catalítica requer uma molécula de água e por isso as lipases possuem a característica de atuar na interface entre uma solução aquosa e uma não aquosa, o que lhes confere características importantes do ponto de vista



tecnológico. A denominação das lipases é dependente da natureza dos substratos hidrolisados preferencialmente, por exemplo, as fosfolipases atuam sobre a hidrólise de fosfolípidios (KIRK, BORCHERT, FUGLSANG, 2002).

As lipases têm funções muito diversificadas, e além de sua capacidade de hidrolisar gorduras, essas enzimas podem catalisar outros tipos de reações, como as de esterificação e alcoolize (CARVALHO et al, 2005; DE MARIA, 2007). Segundo Fickers, Destain e Thonart (2008) as lipases de origem vegetal são encontradas principalmente nas sementes onde os triglicerídeos são armazenados em maior quantidade. Já nos animais vertebrados as lipases estão relacionadas principalmente ao controle da digestão, absorção e metabolismo de gorduras.

As lipases também estão amplamente distribuídas em microrganismos como bactérias, leveduras e fungos filamentosos. Os primeiros estudos com lipases foram conduzidos com enzimas de origem animal, contudo o interesse pelas lipases microbianas tem aumentado devido ao grande número de aplicações que essas enzimas oferecem em áreas como medicina, indústria alimentícia, farmacêutica, na síntese de biopolímeros, síntese orgânica e na área ambiental (CARVALHO et al, 2005; ROVEDA, HEMKEMEIER, COLLA, 2010).

Em geral, as lipases de origem bacteriana têm um pH ótimo próximo da neutralidade (7,0) ou ligeiramente alcalino (8 a 8,5), enquanto as lipases de origem fúngica possuem um pH ótimo próximo da neutralidade (7,0) ou ligeiramente ácido, entre 5,6 e 6,0 por exemplo. No entanto algumas lipases são capazes de catalisar reações de hidrólise em condições mais extremas como, por exemplo, nos mamíferos, em que a lipase gástrica, secretada pela mucosa gástrica, hidrolisa os lipídeos da dieta no estômago em valores de pH próximos de 1,0. A temperatura ótima para atividade das lipases está entre 30 e 40 °C. Em geral, as lipases de origem vegetal e animal são mais sensíveis à temperatura do que as lipases microbianas (PASTORE, COSTA, KOBLITZ, 2003).

Além de pH e temperaturas ótimas de reação, as demais características físico-químicas variam de acordo com a estrutura química da enzima, que por sua vez alteram outras características como a cinética de reação, seletividade e especificidade. As lipases microbianas podem variar bastante quanto a sua conformação e ação sobre os lipídeos, dependendo do microrganismo que as produz (MESSIAS et al, 2011).

A vantagem das lipases microbianas é que os processos de obtenção são relativamente simples se comparado ao processo produtivo de lipases de origem animal. Esse recurso biotecnológico tem permitido o desenvolvimento de muitas aplicações para lipases microbianas, o que resultou em produtos atualmente comercializados e com aplicações bastante variadas e bem-sucedidas (DE MARIA, 2007).

Produto	Aplicação
Lectase ultra™, Novozimes A/S	Degomagem de óleos vegetais comestíveis
Lectase® 10L, Novozimes A/S	Melhoria de propriedades da gema de ovo
Rohalase® Zytex	Degomagem de óleos vegetais
YieldMAX™, Chr. Hansen-Novozimes A/S	Aumento de rendimento de produtos lácteos
Lipopan F™, Novozimes A/S	Panificação (emulsificante/estabilizante)
Gndamyl™, Danisco A/S	Panificação (emulsificante/estabilizante)

Tabela 2.

Variedade de produtos e aplicações de lipases na indústria

Adaptado de: ELLOLY, 2011

Fosfolipases

Fosfolipases são um grupo específico de lipases que tem como função modificar fosfolípidios. É uma classe de enzimas bastante complexa e que está presente em quase todos os seres vivos (DE MARIA et al, 2007; KARAHAN, AKIN, 2017).

As fosfolipases são classificadas em dois grandes grupos de acordo com o sítio de reação na molécula de fosfolípidio: acil-hidrolases e fosfodiesterases. Isto porque a molécula de lipídeo possui duas ligações éster de ácido carboxílico e duas ligações éster ligadas à fosfatos, e são essas posições que determinam seu sítio de ação e nomenclatura. (Figura 3)

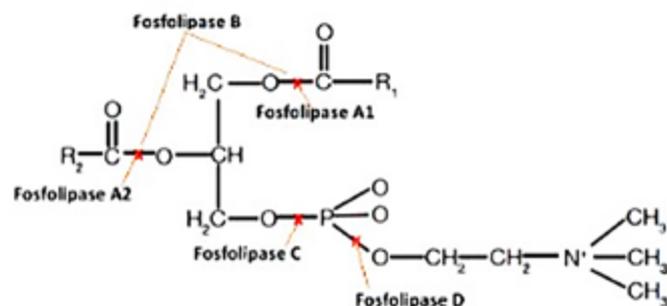


Figura 3.

Tipos de fosfolipases e sítios de ação destas enzimas.

Adaptado de ESTEVES, 2017.

As acil-hidrolases incluem as fosfolipases A1, A2, B e liso-fosfolipases A1/2. As acil-hidrolases substituem a cadeia do ácido carboxílico por meio de reações de hidrólise, esterificação e transesterificação.

As fosfodiesterases são representadas pelas fosfolipases C e D (CASADO et al, 2012).

A fosfolipase tipo A1 (EC 3.1.1.32) é encontrada em diversos organismos vivos. Esta enzima hidrolisa a ligação acil-éster liberando liso-fosfolípidios e ácidos graxos livres. Esta característica é de interesse na indústria, pois os 27 liso-fosfolípidios



liberados através da hidrólise tem perfil emulsificante, com aplicações industriais que incluem a panificação, indústria de óleos, entre outras (HÖIER, LILBAEK, BROE, 2006; KARAHAN, AKIN, 2017).

Utilização de fosfolipases na indústria de alimentos

Fosfolipases tipo A1

Fosfolipases são uma classe variada de enzimas com vasto campo de aplicações industriais, em especial na indústria de alimentos. Alguns tipos de fosfolipases, entre elas as do tipo A1 têm sido aplicadas na indústria de óleo vegetais na etapa de degomagem, que consiste na retirada de fosfolipídeos do óleo. Além da eficiência, esse processo tem menor impacto ambiental, já que o uso da enzima fosfolipase permite uso de menor quantidade de produtos químicos nesta etapa.

As enzimas fosfolipase tipo A1 de origem microbiana são produzidas através de diferentes tipos fungos as sintetizam, tais como as espécies *Aspergillus oryzae* e *Fusarium oxysporum*. As enzimas de origem microbiana passam por processos de beneficiamento e purificação para serem então utilizadas em larga escala por indústrias de alimentos (CASADO et al, 2012; KARAHAN, AKIN, 2017).

Dentre as fosfolipases do tipo A1 destacam-se aquelas utilizadas para melhoria de textura e ganho de rendimento na indústria de laticínios. Isto porque dentre os componentes do leite estão os fosfolipídeos, e mesmo em pequenas quantidades na membrana do glóbulo de gordura do leite, tem um papel importante na estabilização da gordura presente no leite (DE MARIA et al, 2007; KARAHAN, AKIN, 2017).

Aplicações de lipases na indústria de laticínios são mais conhecidas, como por exemplo, a utilização de lipases para melhoria do sabor e aroma de queijos maturados, além de acelerar o processo de cura de alguns queijos. (SOUSA, McSWEENEY, 1999). As pesquisas para aplicação de fosfolipases na indústria de laticínios vêm se desenvolvendo desde a última década, mas as aplicações de fosfolipases comerciais na indústria de laticínios é mais recente e tem apresentado resultados positivos (HÖIER, LILBAEK, BROE, 2006).

Na indústria de queijos, a utilização de fosfolipases está relacionada à estratégia de aumento de rendimento, ou seja, melhorar as cifras de transição, minimizando as perdas de sólidos no soro e atuando no ajuste de umidade da coalhada (DE MARIA et al, 2007; KARAHAN, AKIN, 2017).

A ideia de utilizar fosfolipases do tipo A1 na melhoria do rendimento de fabricação de queijos não era considerada até pouco tempo, e vem sendo testada nos últimos anos como uma nova estratégia tecnológica na área de leite e derivados. Contudo os efeitos destas enzimas na membrana do glóbulo de gordura do leite ainda não são completamente compreendidos (DE MARIA et al., 2007; TRANCOSO-REYES et al, 2014). A melhoria do rendimento com a utilização de fosfolipases

está associada à hidrólise parcial de fosfolipídeos presentes no leite. Esta reação aumenta a retenção de gordura e umidade na coalhada. Normalmente de 85 a 95% da gordura e 75% da proteína do leite estão retidos na coalhada. Quando se adiciona a enzima, e esta hidrolisa parte dos fosfolipídeos, melhora-se a estabilização da emulsão (partição óleo/água) (CASADO et al, 2012; LILBAEK et al, 2006; TRANCOSO-REYES et al, 2014).

Höier, Lilbaek e Broe (2006) relataram em seu experimento que a interação entre fosfolipídeos hidrolisados e proteínas aumentou a retenção de gordura no coágulo, proporcionando aumentos de rendimento que variam entre 0,7% a 3,8 %.

A enzima fosfolipase A1 apresenta-se estável a temperatura de até 45°C. A partir desta temperatura inicia-se o processo de desnaturação, em que as enzimas perdem sua conformação, perdendo, portanto, sua atividade enzimática de forma irreversível. Mais de 90% das fosfolipases A1 são inativadas a temperatura de pasteurização do leite (72 a 75°C por 15 a 20 segundos) (Figura 4).

Em relação ao pH a enzima fosfolipase é estável em uma ampla faixa de pH. Os ácidos fortes inativam a enzima de maneira irreversível.

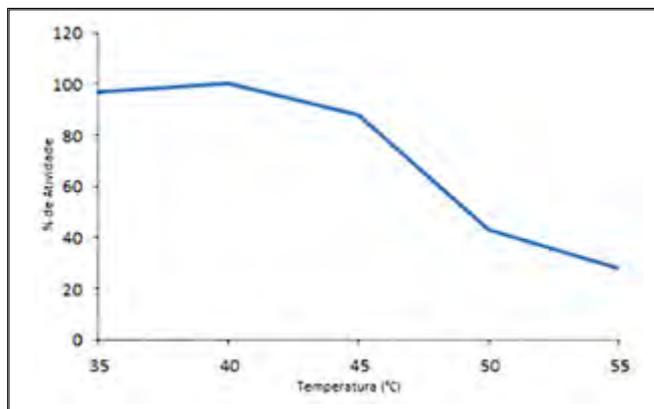


Figura 4. Temperatura ótima de atividade e temperatura de desnaturação da enzima fosfolipase A1 produzida por cepa de fungos *Aspergillus oryzae*.

Adaptado de: Hansen, 2018. Informação de Produto

Fosfolipases tipo A2, B, C e D

As fosfolipases tipo A2 já têm sido usadas há mais tempo, sendo importante ingrediente emulsificante de gema de ovos para produção de maionese, molhos e indústria de panificação. Na produção de pães e bolos o uso de fosfolipases tipo A2 é mais recente e tem função emulsificante. A enzima modifica fosfolipídeos presentes na farinha produzindo lipídeos hidrolisados ou "lisofosfolipídios". Estes compostos oriundos da hidrólise dos fosfolipídeos contribuem na umidade da massa, aumentam o tempo de validade do produto, reduzindo



também as quantidades de emulsificantes adicionados (CASADO et al, 2012).

As fosfolipases tipo B têm sido testadas em aplicações para biocatálise. Já as fosfolipases tipo C vem sendo utilizadas na fase de degomagem de óleos vegetais com sucesso, diminuindo a adição de outras substâncias químicas e tornando o processo mais eficiente. As fosfolipases tipo D têm sido testadas 30 em aplicações para as indústrias farmacêutica e cosmética (CASADO et al, 2012).

Aplicação da enzima fosfolipase

Fosfolipídeos estão presentes em todas as membranas biológicas, incluindo as membranas celulares dos microrganismos. A hidrólise dos fosfolipídios pelas fosfolipases gera produtos tensoativos. A liberação desses produtos a partir da membrana celular pode alterar a estrutura supramolecular, causando alterações no seu funcionamento ou mesmo causar danos ao processo de multiplicação celular (TRANCOSO-REYES, 2014; KARAHAN, AKIN, 2017).

A composição das membranas de microrganismos inclui lipídeos e fosfolipídeos susceptíveis, portanto, à ação de enzimas capazes de hidrolisá-los. A morfologia das células bacterianas apresenta além de membrana celular fosfolipídica, estrutura da parede celular. A forma como a parede celular está organizada classifica-as em bactérias Gram positivas ou negativas (HANSEN, 2017).

Membranas de fungos filamentosos e leveduras possuem também estrutura fosfolipídica semelhante, contudo, a parede celular que as reveste tem composição química distinta, sendo caracterizado pela presença quitina (FUKUDA et al, 2009).

A ação das fosfolipases sobre células neste sentido tem sido pesquisada também no âmbito de alimentos. Foi relatado em Ha-La Biotec (HANSEN, 2017) diferenças entre a contagem de coliformes em queijos produzidos com esta enzima, em comparação ao tratamento controle sem aplicação. Embora em outro experimento conduzido por Trancoso-Reyes, et al (2014) que utilizaram enzima fosfolipase A1 na produção de queijo Chihuahua, tenha-se concluído que a adição desta enzima na produção de queijos não alterou de forma significativa os microrganismos produtores de exopolissacarídeo que foram adicionados na fabricação na forma de cultura láctea.

Legislação: uso de coadjuvantes de tecnologia no Brasil

No Brasil as preparações enzimáticas são regulamentadas pela ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) através da Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 53 e a RDC nº 54 de 07 de outubro de 2014. As fosfolipases tipo A1 e A2 estão previstas na lista de enzimas de origem microbiana que podem ser utilizadas na produção de alimentos em geral no Brasil (BRASIL, 2014).

O Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA)

prevê o uso de ingredientes e coadjuvantes de tecnologia no preparo de queijo Minas Frescal por meio da Portaria nº352 de 04 de setembro de 1997 - "Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ) do queijo Minas Frescal" (BRASIL, 1997).

A Portaria nº352 de 1997 faz referência à Portaria nº146 de 1996 ("Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade dos Queijos") quando trata do uso de coadjuvantes de tecnologia ou elaboração no queijo Minas Frescal. Esta Portaria, nº146 de 1996, prevê o uso coadjuvantes de tecnologia para os "queijos de muito alta umidade tratados termicamente". Já para as demais classificações de queijo, a Portaria nº 146/1996 não especifica se os coadjuvantes poderão ou não ser utilizados, bem como tipos e dosagens permitidas para cada classe de queijos (BRASIL, 1996).

Conclusão

O Queijo Minas Frescal é um dos queijos mais populares e consumidos no Brasil e possui rendimento que varia entre 15 a 20 kg de queijo por 100 kg de leite. O rendimento do queijo é um determinante da rentabilidade de fábricas de laticínios; portanto, métodos diferentes têm sido empregados a fim de alcançar melhores resultados. A utilização de fosfolipase na produção de queijos parece ser uma possível alternativa tecnológica para melhorar rendimento e qualidade, sem alterações sensoriais consideráveis no produto.

Agradecimento:
A FAPEMIG, pelo apoio aos projetos.

REFERÊNCIAS

- ARAVINDAN, R., ANBUMATHI, P., VIRUTHAGIRI, T. Lipase applications in food industry. *Indian Journal of Biotechnology*. Vol 6. p. 141-158. 2006.
- BRASIL, 1996. Portaria nº 146 de 7 de março de 1996. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade dos Queijos. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, 11 de março de 1996.
- BRASIL, 1997. Portaria nº352 de 09 de abril de 1997— Aprova o "Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ) do queijo Minas Frescal". *Diário Oficial da União*. Brasília, 4 de setembro de 1997.
- BRASIL, 2014. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC Nº 53, de 07 de outubro de 2014. Dispõe sobre a lista de enzimas, aditivos alimentares e veículos autorizados em preparações enzimáticas para uso na produção de alimentos em geral. *Diário Oficial da União* nº 194, Brasília, DF, 08 de outubro de 2014.
- BUZATO, R. M. P. Influência da relação caseína/gordura do leite e da temperatura de cozimento da massa no rendimento



- de fabricação e nas propriedades físico-químicas, funcionais e sensoriais do queijo de coalho. Tese de Doutorado. Universidade de Campinas. Campinas 2011.
- CARVALHO, P. O., CALAFATTI, S., MARASSI, M., SILVA, D. M., CONTESINI, F. J., BIZACO, R. Potencial de biocatálise seletiva de lipases microbianas. *Química Nova*. v.28. no 4. p. 614-621. 2005.
- CASADO, V., MARTIN, D., TORRES, C., REGLERO, G. Phospholipases in food industry: a review. *Methods in Molecular Biology*. V.861. 2012.
- CASTRO, K. A., SILVA, K. A. L., PEREIRA, A. I. A., ORSINE, J. V. C. Efeito da contagem de células somáticas sobre a qualidade dos queijos Prato e Mussarela. *Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial*. V.8. p. 1237-1250. 2014.
- COELHO, K. O., MESQUITA, A. J., MACHADO, P. F., LAGE, M. E., MEYER, P. M., REIS, A. P. Efeito da contagem de células somáticas sobre o rendimento e a composição físico-química do queijo Muçarela. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. V.66. p. 1260-1268. 2014.
- COSTA, F. F., BRITO, M. A. V. P., SOUZA, G. N., PEREIRA, D. B. C., PINTO, I. S. B., MARTINS, M. F. Efeito da temperatura das amstras de leite na concentração de cálcio solúvel e de beta-caseína: interferência no teste de estabilidade frente ao etanol. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. V.66. p.573-578. 2014.
- COSTA, M. R., FLORES, R. J., GIGANTE, M. L. Propriedades da membrana do glóbulo de gordura do leite. *Alimentos e Nutrição*. V.20. n.3 p.507-514. 2009.
- DE MARIA, L., VIND, J., OXENBOLL, K. M., SVENDSEN, A. PATKAR, S. Phospholipases and their industrial applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*. No.74. p. 290-300. 2007.
- ELLOLY, M. M. Composition, proprieties and nutritional aspects of milk fat globule membrane a review. *Polish Journal of Food and Nutrition Science*. V.61. p. 7-32. 2011.
- ESTEVEZ, C. Phospholipase. Disponível em: <http://knoow.net/cienterravida/biologia/fosfolipase/>. 2017. Acesso em 06 de março de 2024.
- FICKERS, P., DESTAIN, J., THONART, P. Les lipases sont des hydrolases atypiques: principales caractéristiques et applications. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment*. N°2. v.2. p. 119-130. 2008.
- FOX, P. F.; McSWEENEY, P. L. H. *Dairy Chemistry and Biochemistry*. Published by Blackie Academic & Professional, an imprint of Thomson Science, 2-6 Boundary Row, London SE18UK. First ed. 1998.
- FUKUDA, E. K., VASCONCELOS, A. F. D., MATIAS A. C., BARBOSA A., M., DEKKER R. F. H., SILVA M. L. C. Polissacarídeos de parede celular fúngica: purificação e caracterização. *Semina: Ciências Agrárias, Londrina*, v. 30, n. 1, p. 117-134. 2009.
- FURTADO, M. M. Principais problemas dos queijos causas e prevenção. Fonte Comunicações e Editora. São Paulo, SP, Brasil. 2005.
- HANSEN, C. Ficha técnica: Informação de Produto. Versão: 7 PI GLOB PT 04-01-2018.
- HANSEN, C. Ha-La Biotec. Informativo Trimestral para Indústria Láctea. Ano XXVIII. N°140/141. Julho-Dezembro de 2017.
- HÖIER, E., LILBAEK, H., BROE, M. L. Enhancing cheese yield by phospholipase treatment of cheese milk. *The Australian Journal of Dairy Technology*. V.61. 2006.
- KARAHAN, L. E., AKIN, M. S. Phospholipase Applications in Cheese Production. *Journal of Food Science and Engineering*. N°7. p 312-315. 2. 2.
- KIRK O., BORCHERT T. V., FUGLSANG C. C. Industrial enzyme applications. *Curr Opin Biotechnol*. 2002 Aug. 13 (4): 345-51. doi: 10.1016/s0958-1669(02)00328-2. PMID: 12323357.
- LILBAEK, H. M., BROE, M L., HOIER, E., FATUM T. M., IPSEN, R., SORENSEN, N. K. Improving the Yield of Mozzarella Cheese by Phospholipase Treatment of Milk. *Journal of Dairy Science*. 2006.
- MANSSON, H. L. Fatty acids in bovine milk fat. *Food & Nutrition Research*. V.52. n°1. 2008.
- MESSIAS, J. M., COSTA, B. Z., LIMA, V. M. G., GIESE, E.C, DEKKER, R. F. H., BARBOSA, A. M. Lipases microbianas: Produção, propriedades e aplicações biotecnológicas. *Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas*. V.32. p. 213- 234. 2011.
- PASTORE, G. M., COSTA, V. S. R., KOBLITZ, M. G. B. Purificação parcial e caracterização bioquímica de lipase extracelular produzida por nova linhagem de *Rhizops.sp*. *Ciência e Tecnologia dos Alimentos*. v.23. p.135-142. 2003.
- PAULA, J. C. J. CARVALHO, A. F., FURTADO, M. M. Princípios básicos da fabricação de queijos: do histórico à salga. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*. V.64. p.19-25. 2009.
- ROVEDA, M., HEMKEMEIER, M., COLLA, L. M. Avaliação da produção de lipases por diferentes cepas de microrganismos isolados em efluentes de laticínios por fermentação submersa. *Revista de Ciência e Tecnologia de Alimentos*. v.30. 2010.
- SOUSA, M. J., McSWEENEY, P. L. H. Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheeses during ripening: A review. *Le lait Dairy Science and Technology*. Volume 80, Number 3, 2000.
- TRANCOSO-REYES, N., GUTIERREZ-MENDEZ, N., SEPULVEDA, D. R., HERNANDEZ-OCHOA, L. R. *Journal of Dairy Science*. Assessing the yield, microstructure, and texture properties of miniature Chihuahua-type cheese manufactured with a phospholipase A1 and exopolysaccharide-producing bacteria. Vol 97. N°2 201
- TURCOT, S., TURGEON, S., ST-GELAIS, S. Effect of buttermilk phospholipid concentrations in cheese milk on production and composition of low fat Cheddar cheese. *Dairy Science and Technology*. p.429-442. 200.
- VANDERGHEN, C., BODSON, P., DANTHINE, S., PAQUOT, M., DEROANNE, C., BLECKER, C. Milk fat globule membrane and buttermilks from composition to valorization. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment*. V.14. p.485-500. 2010.
- VILELA, S.C. Nova abordagem sobre rendimento na fabricação de queijos. Pouso Alegre, 23 de março de 2017. 29 slides. Material apresentado no "III Seminário Macalé - Chr.Hansen".