



UFC

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

CURSO DE BACHARELADO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS

LANNA SCHIRLEY DE SOUSA TOMAZ

**PROTEASES NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS: UMA REVISÃO ACERCA DOS
TIPOS, CARACTERÍSTICAS E APLICAÇÕES**

FORTALEZA

2023

LANNA SCHIRLEY DE SOUSA TOMAZ

PROTEASES NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS: UMA REVISÃO ACERCA DOS
TIPOS, CARACTERÍSTICAS E APLICAÇÕES

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Engenharia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do grau de bacharel em Engenharia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Rafael Audino Zambelli

FORTALEZA

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

T615p Tomaz, Lanna Schirley de Sousa.

Proteases na indústria de alimentos : uma revisão acerca dos tipos, características e aplicações / Lanna Schirley de Sousa Tomaz. – 2023.

39 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Curso de Engenharia de Alimentos, Fortaleza, 2023.

Orientação: Prof. Dr. Rafael Audino Zambelli.

1. Aplicações enzimáticas. 2. Enzimas. 3. Peptidases. I. Título.

CDD 664

LANNA SCHIRLEY DE SOUSA TOMAZ

PROTEASES NA INDÚSTRIA DE ALIMENTOS: UMA REVISÃO ACERCA DOS
TIPOS, CARACTERÍSTICAS E APLICAÇÕES

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Engenharia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do grau de bacharel em Engenharia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Rafael Audino Zambelli

Aprovada em: 06/12/2023.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Rafael Audino Zambelli (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

M^a Eliedir Ribeiro da Cunha Trigueiro
Universidade Federal do Ceará (UFC)

M^a Maria Tereza Lucena Pereira
Universidade Federal do Ceará (UFC)

A Deus.

A minha família e meus amigos.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Ceará, mais especificamente ao Departamento de Engenharia de Alimentos, por todo conhecimento e oportunidades que me foram proporcionados.

Ao Prof. Dr. Rafael Zambelli, por ter aceitado me orientar nesse trabalho tão importante para minha formação.

À minha mãe, Aldeiza, e ao meu pai, Júlio, por sempre se esforçarem para que nada faltasse para mim e meus irmãos, por sempre acreditarem em mim e me amarem apesar dos meus defeitos. Espero um dia conseguir retribuir tudo o que vocês fizeram, fazem e ainda vão fazer por mim. Vocês são os melhores pais que eu poderia ter!

Aos meus irmãos, Hanna, Lohan e Yohan, por todos os momentos divertidos que passamos juntos. Não poderíamos ser mais diferentes, mas acredito que isso torna nossa relação ainda mais especial. Amo vocês!

À minha vó, Mazé, que é uma das pessoas que mais me ama no mundo e que sempre faz tudo ao seu alcance por mim. Obrigada por sempre me apoiar e estar ao meu lado. Daqui a pouquinho a senhora vai ter uma neta formada, vó!

Ao meu tio, Arimateia (ti Mateia), por toda a ajuda que o senhor oferece a nossa família. Obrigada por todo o apoio e por sempre fazer o possível pela gente! O senhor é um grande exemplo e inspiração.

À minha madrinha, Simônica, por ter me acolhido junto a sua família nos meus anos iniciais da faculdade. Sem a senhora eu não teria conseguido permanecer aqui!

Às minhas amigas, Ariane e Alice, que me acompanham desde bem antes da UFC. Ariane, uma amizade que vem do fundamental, que é aquela amiga que proporciona as melhores risadas sempre, obrigada por todos os momentos que passei ao seu lado! E a Alice, que conheci no ensino médio e nos aproximamos por conta de um livro (não vejo forma melhor de começar uma amizade!) e que desde a pandemia a gente vem criando uma conexão incrível. Obrigada meninas, por fazerem parte da minha vida!

Aos amigos que a universidade me proporcionou, Daniel, Hilldyson, Iris, Ivila, Moana, Sanvily e Vanessa, vocês tornaram essa jornada bem mais leve e prazerosa. E um agradecimento especial para a Soraya, minha eterna dupla de

CAD, que esteve comigo até esse finalzinho da graduação, que me acompanhou nas cadeiras mais caóticas (muitas vezes por invenção minha) e tornou essa experiência bem mais fácil!

E por último, mas não menos importante, quero agradecer a mim, por nunca ter desistido apesar de todas as inseguranças e receios.

Todos aqui citados foram muito importantes para que eu enfim chegasse até aqui. Muito obrigada!!

“Ergueu o rosto e sentiu uma onda momentânea de esperança e promessa.”
(Kelly Barnhill - A garota que bebeu a lua).

RESUMO

As enzimas são catalisadores biológicos amplamente empregados na indústria de alimentos e bebidas. Um dos grupos de destaque desses catalisadores são as proteases, que correspondem a aproximadamente 60% das enzimas industriais atualmente. Visto a importância deste grupo de enzimas, o presente trabalho teve como objetivo realizar uma revisão da literatura acerca das proteases, trazendo os tipos, características e aplicações dessas enzimas na indústria alimentícia, onde foram discutidas as principais proteases que são atualmente utilizadas nesta indústria, sendo elas: papaína, bromelina, quimosina, actinidina, pepsina, proteases obtidas através de microrganismos e proteases comerciais. Além disso, foram abordados alguns estudos que trazem novas aplicações para essas enzimas. Como destaque da aplicação das proteases na indústria de alimentos, temos os setores de laticínios, cárneo e de panificação, que utilizam diversas peptidases para a realização de processos como coagulação do leite para obtenção de queijos, amaciamento de carnes e redução do teor de glúten em farinhas para melhorar características da massa obtida.

Palavras-chave: aplicações enzimáticas; enzimas; peptidases.

ABSTRACT

Enzymes are biological catalysts that are widely used in the food and beverage industry. One of the most important groups of these catalysts are proteases, which account for approximately 60% of industrial enzymes today. Given the importance of this group of enzymes, the aim of this study was to review the literature on proteases, including the types, characteristics and applications of these enzymes in the food industry. The main proteases currently used in this industry were discussed: papain, bromelain, chymosin, actinidin, pepsin, proteases obtained from microorganisms and commercial proteases. In addition, some studies that bring new applications to these enzymes were discussed. The most notable applications of proteases in the food industry are in the dairy, meat and bakery sectors, which use various peptidases to carry out processes such as coagulating milk to obtain cheeses, tenderizing meats and reducing the gluten content in flours to improve the characteristics of the dough obtained.

Keywords: enzymatic applications; enzymes; peptidases.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura para a peptidase C01.001: papaína	26
Figura 2 – Estrutura para a peptidase A01.006: quimosina	29
Figura 3 – Estrutura para a peptidase C01.007: actinidina	30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Principais palavras-chaves utilizadas para a realização da pesquisa.....	17
Tabela 2 – Características apresentadas por enzimas e catalisadores químicos.....	19
Tabela 3 – Divisão das classes enzimáticas, com as respectivas reações catalisadas pelas mesmas.....	21
Tabela 4 – Exemplos de enzimas usadas na indústria de alimentos.....	23
Tabela 5 – Proteases e principais aplicações na indústria de alimentos.....	25

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazil
EC	<i>Enzyme Commission</i>
NC-IUBMB	<i>Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	OBJETIVOS	16
2.1	Geral	16
2.2	Específicos	16
3	METODOLOGIA	17
4	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
4.1	Enzimas	18
4.1.1	<i>Meios de obtenção</i>	19
4.1.2	<i>Classes de enzimas</i>	20
4.2	Aplicação de enzimas na indústria de alimentos	22
4.3	Proteases	24
4.3.1	<i>Proteases na indústria de alimentos</i>	25
4.3.1.1	<i>Papaína</i>	26
4.3.1.2	<i>Bromelina</i>	27
4.3.1.3	<i>Quimosina</i>	28
4.3.1.4	<i>Actinidina</i>	29
4.3.1.5	<i>Pepsina</i>	31
4.3.1.6	<i>Proteases fúngicas e bacterianas</i>	31
4.3.1.7	<i>Proteases comerciais</i>	32
5	CONCLUSÃO	34
	REFERÊNCIAS	35

1 INTRODUÇÃO

As enzimas são definidas como catalisadores biológicos e, com algumas exceções, são em sua grande parte proteínas. Elas são responsáveis por catalisar as mais diversas reações, fornecendo parte da energia necessária para que essas reações ocorram, sem sofrerem alterações nesse processo. Para que algumas dessas enzimas possam atuar é necessária a presença de outros componentes, chamados de cofatores (íons inorgânicos) e coenzimas (moléculas orgânicas) (Nelson; Cox; Hoskins, 2022).

Quanto a sua classificação, as enzimas se dividem de acordo com os tipos de reações que catalisam. Atualmente existem sete classes de enzimas, sendo elas: oxidorreduções, transferases, hidrolases, liases, isomerases, ligases e translocases (*Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology, 2023a*). Dentro dessas classes existem subclasses que ajudam a especificar quais reações são catalisadas por cada enzima.

O uso de enzimas é bastante diversificado, podendo ser aplicado em indústrias como a de tecidos, detergentes, indústria de couro, de alimentos e bebidas, entre outros setores industriais (Denti *et al.*, 2022). Na indústria de detergentes, por exemplo, tem-se a utilização de lipases e proteases para potencializar a ação desses produtos, enquanto que na indústria de couro as enzimas são utilizadas para facilitar o processo da retirada de pelos. Quando se fala na indústria alimentícia (abrangendo tanto alimentos quanto bebidas), há uma gama de enzimas que são utilizadas nos mais diversos processos, como produção de queijos e amaciamento de carnes (Vermelho *et al.*, 2008; Nascimento, M. C. *et al.*, 2021).

Dentre as indústrias que fazem uso de enzimas nos seus processos, temos como destaque o setor de alimentos e bebidas, uma vez que, segundo relatório elaborado pela *Mordor Intelligence* (2017), que traz informações acerca do tamanho do mercado de enzimas usadas nas indústrias e a participação dos setores industriais nesse mercado, é o segmento que possui maior demanda por enzimas industriais. O crescimento dessa indústria vem fazendo com que a busca por inovação e desenvolvimento de novos produtos neste setor se amplie, aumentando assim a utilização de enzimas nos mais diversos processos.

Na indústria de alimentos, as proteases são um grupo de enzimas

utilizado que possui grande destaque. Representando cerca de 60% do total de enzimas industriais e 40% das vendas mundiais de enzimas, as proteases revelam-se como um dos grupos enzimáticos com maior importância comercial (Denti, 2021). Essas enzimas, que podem ser obtidas de fontes animais, vegetais ou microbiana, atuam catalisando reações de hidrólises de ligações peptídicas e por isso estão incluídas na terceira classe de enzimas, a das hidrolases (Vermelho *et al.*, 2008). Como exemplos de proteases utilizadas na indústria tem-se a papaína, que é aplicada no amaciamento de carnes, quimosina e a pepsina, que são empregadas no processo de coagulação do leite para a produção de queijo, dentre outras diversas enzimas proteolíticas (Nascimento, M. C. *et al.*, 2021).

Visto a importância das proteases para a indústria de alimentos, este trabalho tem como intuito reunir informações acerca dessas enzimas através de uma revisão bibliográfica, utilizando como fontes de pesquisa artigos, livros, revistas, entre outras obras, de modo a apresentar determinadas características dessas enzimas, suas principais fontes de obtenção e suas aplicações na indústria alimentícia.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Reunir informações através de levantamento bibliográfico acerca do uso de proteases na indústria de alimentos.

2.2 Específicos

- Fazer uma breve introdução a respeito das enzimas;
- Destacar as principais enzimas proteolíticas utilizadas no setor alimentício;
- Apresentar informações acerca da classificação dessas proteases de acordo com o *Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology* (NC-IUBMB);
- Elencar as principais fontes de obtenção dessas enzimas;
- Listar os principais processos em que as proteases são utilizadas dentro da indústria de alimentos;
- Apresentar estudos que trazem novas aplicações potenciais para as peptidases.

3 METODOLOGIA

O presente trabalho consiste em uma revisão da literatura que tem como foco o uso de proteases na indústria de alimentos, mas que traz também uma breve introdução sobre as enzimas no geral.

Para o desenvolvimento do trabalho foram realizadas diversas pesquisas acerca do tema, onde foram utilizadas ferramentas de busca e bases de dados como *Google Scholar*, *Elsevier*, *Research Gate*, entre outras, de modo a se obter acesso a artigos, trabalhos acadêmicos e revistas eletrônicas. Além disso, também foi realizado o uso da plataforma "Biblioteca online" de modo a se adquirir acesso ao acervo digital da Universidade Federal do Ceará (UFC). As principais palavras chave utilizadas durante a pesquisa estão listadas na tabela 1:

Tabela 1 – Principais palavras-chaves utilizadas para a realização da pesquisa.

Enzimas - <i>Enzymes</i>	Proteases	Peptidases
Nomenclatura de enzimas - <i>Enzyme Nomenclature</i>	Indústria de alimentos - <i>Food industry</i>	Papaína - <i>Papain</i>
Bromelina - <i>Bromelain</i>	Quimosina - <i>Chymosin</i>	Actinidina - <i>Actinidain</i>
Pepsina - <i>Pepsin</i>	Proteases fúngicas	Proteases bacterianas
Proteases comerciais	Neutrase	Alcalase

Fonte: elaborada pela autora.

É válido ressaltar que essas palavras foram utilizadas tanto de forma independente como também associadas umas às outras para que assim os resultados das buscas fossem mais precisos.

Os materiais utilizados como referência para este trabalho encontravam-se principalmente nos idiomas português ou inglês e em sua maior parte foram desenvolvidos entre 2013 e 2023, mas sem descartar obras importantes que foram produzidas anteriormente a este período.

4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1 Enzimas

Conhecidas como catalisadores biológicos, as enzimas são capazes de reduzir a energia necessária para que determinadas reações possam acontecer, aumentando assim a velocidade com que essas reações ocorrem (Denti *et al.*, 2022). As enzimas são em sua grande maioria proteínas, mas existem exceções, que são algumas poucas classes de moléculas de RNA que também possuem atividade catalítica e que são conhecidas como ribozimas (Nelson; Cox; Hoskins, 2022). Assim como outras substâncias catalisadoras, as enzimas não sofrem alterações durante o processo de catálise, podendo assim serem reutilizadas posteriormente. (Marzzoco; Bayardo, 2022)

Os principais benefícios da utilização de enzimas como catalisadores estão na sua alta especificidade quanto ao substrato, além de exigir condições brandas de processamento, como temperatura, pH e pressão, o que é vantajoso para a indústria (Justina; Justina; Skoronski, 2018). Além disso, as enzimas possuem poder catalítico bem maior do que catalisadores sintéticos ou inorgânicos, sendo capazes de aumentar a velocidade de uma reação em uma ordem de 10^3 , podendo chegar até 10^{17} , e isso graças a sua alta especificidade, que faz com que uma enzima possa catalisar apenas uma única reação ou um número pequeno de reações, tornando-as bastante seletivas (Ferrier, 2019; Nelson; Cox; Hoskins, 2022). Fatores como esses tornam as enzimas opções mais eficientes quando comparadas com catalisadores químicos.

Apesar dos seus diversos benefícios, o uso de enzimas como catalisadores enfrenta certas dificuldades quando se fala em variação das condições de processo. As enzimas são bastante sensíveis a alterações de temperatura e pH, que podem ocasionar uma mudança conformacional em sua estrutura e fazer assim com que essa enzima perca sua atividade catalítica. Essa alteração na conformação dessas moléculas que acarreta na perda da sua atividade catalítica é denominada de desnaturação (Monteiro; Silva, 2009). Essa baixa estabilidade às condições de processo acaba sendo um fator de restrição para o uso de enzimas em determinados procedimentos industriais.

A tabela 2 traz um comparativo entre algumas características apresentadas por enzimas e catalisadores químicos.

Tabela 2 – Características apresentadas por enzimas e catalisadores químicos.

Características	Enzimas	Catalisadores químicos
Especificidade ao substrato	Alta	Baixa
Sensibilidade ao pH e temperatura	Alta	Baixa
Condições de processamento (T, pH e P)	Brandas	Geralmente drásticas
Custo de obtenção	Alto	Moderado
Estabilidade	Baixa	Alta
Velocidade de reação	Alta	Baixa

Fonte: adaptada de Silva (2013).

4.1.1 Meios de obtenção

As enzimas podem ser extraídas essencialmente de três tipos de fonte: animal, vegetal e microbiana. Dentre essas fontes as enzimas de origem microbiana possuem maior destaque, visto que o rendimento na produção pode ser aumentado através da melhoria das condições de fermentação do microrganismo, além de ser uma fonte que não depende de condições sazonais e por isso se encontra disponível intermitentemente, entre outras vantagens (Monteiro; Silva, 2009).

Enzimas obtidas de diferentes fontes podem apresentar características distintas, tal como alguns trabalhos demonstram. Proteases que são obtidas através de fontes vegetais possuem uma maior estabilidade em relação ao pH e a temperatura, podendo atuar em faixas mais amplas desses parâmetros do que proteases obtidas por outras fontes (Chinnadurai; Krishnan; Perumal, 2018). Em contrapartida, a obtenção de enzimas por fontes vegetais torna-se mais difícil devido a resistência da parede celular dessas fontes e também a presença de

contaminantes, que irão dificultar a solubilização dessas enzimas, tornando mais complexa a extração e reduzindo o rendimento de obtenção de enzimas (Denti *et al.*, 2022).

Quando se fala em enzimas obtidas de fontes animais, essas fontes conseguem oferecer uma produtividade maior ao serem comparadas com as de origem vegetal, mas ainda assim esse rendimento não é o suficiente para que se possa prover a demanda da indústria por si só (Denti *et al.*, 2022). Para que essa demanda seja suprida é realizada a obtenção de enzimas através da produção por microrganismos.

Com o conhecimento que se tem disponível sobre a produção de enzimas por microrganismos atualmente já é possível produzir enzimas que apresentam maior estabilidade e possuem maior atividade catalítica quando comparadas com as enzimas de outras fontes (animais e vegetais) (Simas, 2023). Além disso, a quantidade de enzima obtida por microrganismos através da fermentação pode ser controlada, gerando mais ou menos enzimas. A grande dificuldade nesse processo é o de purificar essas enzimas, visto que durante a fermentação o microrganismo pode produzir mais de uma enzima, além de outros produtos obtidos durante esse processo (Moraes, 2021).

4.1.2 Classes de enzimas

Atualmente as enzimas são divididas em sete classes principais, sendo elas: oxidorreduções, transferases, hidrolases, liases, isomerases, ligases e translocases. Essa divisão é elaborada de acordo com o tipo de reação que as enzimas catalisam. A tabela 3 detalha essa classificação.

Tabela 3 – Divisão das classes enzimáticas, com as respectivas reações catalisadas pelas mesmas.

Número da classe	Nome da classe	Reações que catalisam
1	Oxidoredutases	Transferência de elétrons (íons hidreto ou átomos de H).
2	Transferases	Transferência de grupos.
3	Hidrolases	Reações de hidrólise (transferência de grupos funcionais para a água).
4	Liasas	Clivagem de C—C, C—O, C—N ou outras ligações por eliminação, rompimento de ligações duplas ou anéis, ou adição de grupos a ligações duplas.
5	Isomerases	Transferência de grupos dentro de uma mesma molécula, produzindo formas isoméricas.
6	Ligases	Formação de ligações C—C, C—S, C—O e C—N por reações de condensação bem como hidrólise de ATP ou cofatores similares.
7	Translocases	Movimentos de moléculas ou íons através de membranas ou suas separações por membranas.

Fonte: Nelson; Cox; Hoskins (2022).

Além das classes, cada enzima também está inserida em uma subclasse e uma sub-subclasse, de forma a especificar ainda mais cada uma delas, de acordo com seu mecanismo de ação para realizar a catálise de reações (*Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology, 2023j*). A enzima β -glicosidase, por exemplo, pertence à classe das hidrolases, que atuam catalisando reações de hidrólise, à subclasse glicosilases, pois participam na hidrólise de compostos glicosila, e à sub-subclasse das glicosidases, hidrolisando compostos O- ou S-glicosil (Pacheco; Mendes, 2021).

4.2 Aplicação de enzimas na indústria de alimentos

O uso de enzimas para obtenção de alimentos é bastante antigo, remontando o período da antiguidade. Mesmo que não houvesse ainda o conhecimento de fato sobre esses catalisadores, eles já eram inconscientemente utilizados na obtenção de produtos como pães e vinhos (Monteiro; Silva, 2009).

A vasta aplicação de enzimas nessa indústria se deve a fatores como a atoxicidade dessas moléculas, a necessidades de condições brandas de processamento, sua alta especificidade e principalmente ao seu alto poder catalítico. Por conta disso, atualmente a aplicação de enzimas se dá em diversos setores da indústria alimentícia, como a panificação, cervejaria, laticínios, carnes, entre outros (Moraes, 2021). A tabela 4 traz algumas enzimas e suas aplicações na indústria de alimentos.

Tabela 4 – Exemplos de enzimas usadas na indústria de alimentos.

Enzimas	Aplicações
Amilases	Panificação, xaropes, cervejaria, sucos de fruta
Proteases	Panificação, cervejaria, laticínios
Lactase	Deslactosação do leite integral ou do soro
Fosfatase	Alimentos infantis
Catalase	Desglicosação de ovos
Glicose oxidase	Desglicosação de ovos
Tanase	Cervejaria
Naringinase	Sucos de fruta
Pectinase	Vinhos e sucos de fruta

Fonte: Moraes (2021).

No setor de laticínios as enzimas são utilizadas principalmente nos processos de coagulação do leite (para obtenção de queijos) e fabricação de produtos isentos de lactose. É graças ao uso da lactase, enzima que catalisa a reação de hidrólise da lactose, que pessoas que possuem intolerância à lactose podem consumir produtos de origem láctea (Justina; Justina; Skoronski, 2018).

Outro setor da indústria de alimentos que demanda por enzimas em seus processos é o de bebidas. Um exemplo de enzimas utilizadas neste setor são as amilases, que catalisam a hidrólise do amido com o intuito de liberar açúcares fermentescíveis que serão utilizados por leveduras para realizar a fermentação de bebidas (Denti *et al.*, 2022). Essas são apenas algumas das aplicações de enzimas nas indústrias alimentícias, que se estendem a diversos outros setores.

Dentre as enzimas empregadas em processos alimentícios, as proteases possuem uma vasta aplicação, que vai desde processos de panificação até outros como, clarificação de bebidas, coagulação de leite, etc. Essas enzimas atuam catalisando reações de hidrólise de ligações peptídicas, o que ocasiona mudanças na solubilidade, sabor e textura dos alimentos, além de alterar outras propriedades como a formação de espuma e capacidade de emulsificação de produtos (Nascimento *et al.*, 2021). Essa gama de utilidades apresentada pelas proteases as tornam um grupo de enzimas demasiadamente importante para a indústria de alimentos.

4.3 Proteases

As proteases, também chamadas de peptidases ou enzimas proteolíticas, são um grupo de enzimas pertencentes à classe 3 (hidrolases). Essas enzimas são responsáveis por catalisar reações de hidrólise de ligações peptídicas presentes em proteínas e fragmentos de proteínas (Denti *et al.*, 2022). As peptidases são divididas em duas subclasses, as exopeptidases (EC 3.4.11-19) e as endopeptidases (EC 3.4.21-24 e EC 3.4.99), onde a diferença entre essas subclasses está na localização das ligações que serão clivadas com o auxílio dessas peptidases. Enquanto as exopeptidases agem sobre ligações peptídicas que estão nas extremidades da cadeia polipeptídica, as endopeptidases atuam nas ligações mais internas dessa

cadeia (*Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology, 2023i*).

Algumas proteases classificam-se ainda de acordo com os grupos químicos presentes no seu sítio ativo que estão envolvidos no processo de catálise. Com isso, surgem as divisões em carboxipeptidases do tipo serina (EC 3.4.16), metalocarboxipeptidases (EC 3.4.17), carboxipeptidases do tipo cisteína (EC 3.4.18), Serina endopeptidases (EC 3.4.21), Endopeptidases de cisteína (EC 3.4.22), endopeptidases aspárticas (EC 3.4.23), metaloendopeptidases (EC 3.4.24), treonina endopeptidases (EC 3.4.25) (Vermelho *et al.*, 2008).

4.3.1 Proteases na indústria de alimentos

Dentre os setores da indústria de alimentos que utilizam as proteases, pode-se destacar o setor cárneo (que utiliza proteases para o processo de amaciamento de carnes), a panificação (onde as proteases irão atuar na degradação do glúten, trazendo modificações na massa obtida), no mercado de laticínios (utilizadas na coagulação do leite para produção de queijos), entre outras aplicações (Nascimento *et al.*, 2021).

A tabela 5 traz algumas proteases utilizadas na indústria de alimentos e os processos nos quais elas podem ser aplicadas.

Tabela 5 - Proteases e principais aplicações na indústria de alimentos.

Proteases	Aplicações
Papaína	Amaciamento de carnes, panificação
Bromelina	Amaciamento de carnes, panificação, cervejaria
Quimosina	Produção de queijos
Actinidina	Amaciamento de carnes, panificação, cervejaria
Pepsina	Produção de queijos, extração de colágeno
Proteases fúngicas	Produção de queijos, panificação
Proteases bacterianas	Melhoramento de características tecnológicas

Fonte: elaborada pela autora.

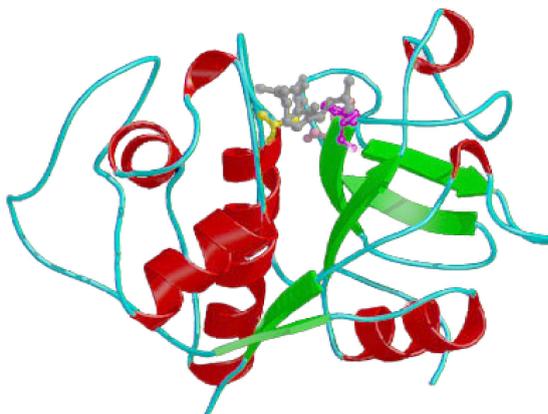
Nos próximos tópicos serão abordados de forma mais específica como essas enzimas podem operar nesses setores.

4.3.1.1 Papaína

Enzima de origem vegetal, a papaína é extraída do látex do mamão (*Carica papaya L.*). Ela é classificada como uma cisteína endopeptidase e seu código numérico é *Enzyme Commission (EC) 3.4.22.2.* (*Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology, 2023d*). Dentre as principais características da papaína temos que sua temperatura ótima para atividade catalítica é de 35°C, e sua faixa de pH ideal é de 5-7. A desnaturação dessa enzima ocorre em temperaturas de aproximadamente 80-90°C. Em baixas temperaturas a atividade dessa enzima é pouco afetada, podendo suportar temperatura de armazenamento de até 4°C (Lima *et al.*, 2001 *apud* Petla, 2022).

A figura 1 traz a representação da estrutura da papaína.

Figura 1 – Estrutura para a peptidase C01.001: papaína.



Fonte: MEROPS *The Peptidase Database* (2023b).

Na indústria de carnes essa enzima é utilizada para proporcionar o amaciamento da carne através da hidrólise de proteínas que compõem o tecido microfibrilar e conjuntivo, alterando assim a textura desses produtos. Por possuir uma estabilidade térmica razoável, a papaína garante o amaciamento da carne durante determinados processos térmicos, como a cocção (Macedo; Matos, 2015). Sua ação sobre a textura da carne faz com que a papaína seja bastante empregada na fabricação de amaciantes industrializados de carnes juntamente com outras

enzimas, como a bromelina, também uma protease, que tornam esse amaciante mais eficiente. Vale ressaltar que, por possuir um baixo poder de penetração, para que a papaína possa atuar é necessário que haja a perfuração dessa carne, e assim essa enzima consiga penetrar de forma mais fácil e realizar sua função (Maciel *et al.*, 2015).

Além do setor de carnes, a papaína também é utilizada na indústria da panificação, reduzindo o teor de glúten em farinhas para a elaboração de pães, bolos e biscoitos (Macedo; Matos, 2015). A utilização de farinhas que sofreram ação da papaína para a elaboração de pães geram massas com maior extensibilidade e também maior elasticidade (Lima *et al.*, 2001 apud Petla, 2022). Através da hidrólise do glúten essa enzima gera a modificação da rede de glúten, o que interfere positivamente na textura e na aparência do produto final. Além disso, o uso da papaína para reduzir o teor de glúten de farinhas acaba fazendo com que o trabalho mecânico empregado nas massas para a fabricação de pães seja reduzido, visto que parte das cadeias polipeptídicas do glúten serão rompidas por ela (Koblitz, 2019).

Em trabalho realizado por Esperança *et al.* (2017) a papaína foi utilizada com o objetivo de obter peptídeos bioativos a partir da hidrólise de proteínas da clara do ovo em pó. O uso dessa enzima propiciou a obtenção de peptídeos com valores de DPPH antioxidante elevados, e assim a amostra obtida apresentou atividade antioxidante maior do que o teste branco realizado para esse experimento, mostrando a eficiência dessa enzima para a obtenção de peptídeos com bioatividade.

4.3.1.2 Bromelina

Também conhecida como bromelaína, trata-se de um conjunto de enzimas proteolíticas que pode ser extraído principalmente do abacaxi (Vieira, 2020), podendo ser obtido do caule (EC 3.4.22.32) (*Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology*, 2023e) ou do fruto (EC 3.4.22.33) (*Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology*, 2023f). Assim como a papaína, a bromelina também é classificada como uma cisteína-endopeptidase. Em comparação com a papaína, a bromelina possui uma resistência térmica menor, perdendo sua atividade catalítica

ao atingir temperaturas maiores do que 70°C. Sua faixa de pH ótima é de 6,0 a 8,0 (Koblitz, 2019).

Normalmente a bromelina é usada em conjunto com a papaína no processo de amaciamento da carne e também na degradação do glúten. Em estudo realizado por (Lima *et al.*, 2001 apud Petla, 2022) foi comparada a capacidade da papaína e da bromelina em hidrolisar o glúten presente em massa elaborada com farinha de trigo. A partir deste experimento foi observado que a bromelina conseguiu enfraquecer a rede de glúten da massa estudada mais rapidamente do que a papaína, mostrando-se mais eficiente para esse fim.

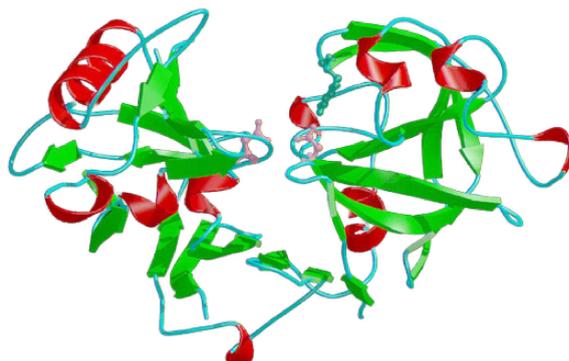
Além dessas aplicações, a bromelina também é utilizada na indústria cervejeira para auxiliar na clarificação da bebida, pois é capaz de hidrolisar alguns complexos formados por proteínas que são produzidos no processo de fermentação e conferem certa turbidez à cerveja (Ferreira *et al.*, 2011). É aplicada também no preparo de alimentos voltados para o público infantil, alimentos dietéticos e também na coagulação enzimática do leite para a produção de queijos (Silva, 2013).

4.3.1.3 Quimosina

Identificada pelo com o código EC 3.4.23.4, a quimosina é classificada como uma endopeptidase aspártica (*Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology*, 2023h). Anteriormente conhecida como renina, essa enzima era obtida do estômago de ruminantes, mas atualmente ela é obtida principalmente através de microrganismos que passam pelo processo de modificação pela técnica de DNA recombinante (Monteiro; Silva, 2009). A maior estabilidade da quimosina é apresentada em uma faixa de pH entre 5,3-6,3, enquanto que sua temperatura ótima está na faixa de 30 a 40°C (Justina; Justina; Skoronski, 2018).

A estrutura dessa enzima está representada na figura 2.

Figura 2 – Estrutura para a peptidase A01.006: quimosina.



Fonte: MEROPS *The Peptidase Database* (2023a).

Essa enzima é utilizada na indústria de alimentos para a produção de queijos, atuando na coagulação da caseína, principal proteína do leite. A quimosina irá atuar através da interação com as micelas de caseína, clivando as ligações peptídicas da camada superficial dessas micelas. Essa clivagem permite que ocorra a formação do paracaseinato de cálcio, que possui baixa solubilidade e acaba se precipitando, gerando a coalhada (Ceroni; Vanin, 2021).

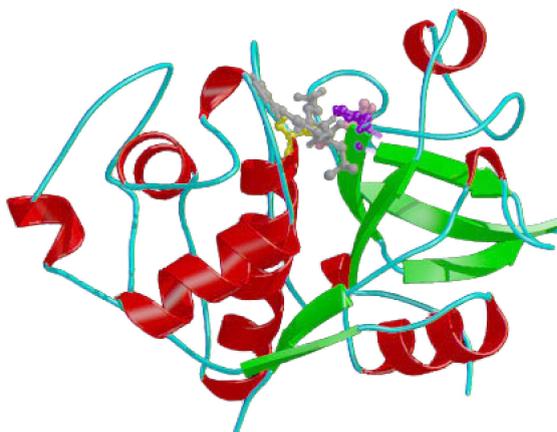
Obispo Gavino (2021) utilizou a quimosina com o intuito de obter leite condensado de forma mais rápida e que ainda possuísse uma boa aceitação sensorial através da aplicação da coalhada obtida por essa enzima na produção de leite condensado. Com a utilização dessa protease, o tempo de produção do leite condensado teve uma média de redução de 41,18%, quase metade do tempo utilizado para a obtenção do produto pelo método tradicional. Quanto à questão sensorial, foram apresentadas as características próprias para esse produto, como textura homogênea, brilho, sabor e aroma agradáveis. Sendo assim, a quimosina mostrou-se como uma alternativa para reduzir o tempo de obtenção do leite condensado sem alterar de forma as características inerentes a esse produto.

4.3.1.4 Actinidina

A actinidina (figura 3) é uma enzima proteolítica de origem vegetal, obtida principalmente do kiwi, que possui como identificação o código EC 3.4.22.14. Ela está incluída no grupo das cisteínas-endopeptidases (*Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology*, 2023c) No kiwi, a

actinidina representa aproximadamente metade do conteúdo de proteína solúvel, sendo este um teor bastante significativo.

Figura 3 – Estrutura para a peptidase C01.007: actinidina.



Fonte: MEROPS *The Peptidase Database* (2023c).

Essa enzima é utilizada especialmente na indústria de carnes, mas também possui aplicação nas indústrias de cerveja e panificação. O uso da enzima actinidina também vem sendo estudado para ser aplicado na produção de queijo, atuando como uma alternativa para realização da coagulação enzimática deste produto (Henriques, 2014).

Em estudo realizado por Grozdanovic, Burazer e Gavrovic-Jankulovic (2013) foram observados os resultados obtidos por uma coagulação do leite realizada através da enzima actinidina, como uma possível alternativa ao uso da quimosina, que é o principal agente coagulante utilizado quando se trata da coagulação enzimática do leite. Como vantagens do uso da actinidina nesse processo se tem o preço, visto que ela é relativamente mais barata do que a quimosina, além disso, a actinidina, ao contrário de outras proteases de origem vegetal que foram testadas para a realização da coagulação do leite, não geram um produto final com sabor amargo.

4.3.1.5 Pepsina

A pepsina (EC 3.4.23.1) é uma enzima de origem animal, obtida através do sistema digestivo de animais, e categorizada como uma endopeptidase aspártica (*Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology*, 2023g). Por se tratar de uma protease do ácido aspártico, essa enzima desempenha sua atividade ótima em uma faixa de pH de 3-4 (Gurumallesh *et al.*, 2019).

Ela é utilizada na coagulação do leite para fabricação do queijo, mas ao contrário da quimosina, que é mais específica e age sobre a proteína caseína, a pepsina é menos específica e atua clivando toda ligação que possui resíduos de valina, fenilalanina, leucina e/ou tirosina, sendo esses aminoácidos essenciais, com exceção da tirosina (Nascimento, M. C. *et al.*, 2021). Por ser inativada em um pH de 6,5 (pH apresentado pelo leite), o uso da pepsina para a coagulação do leite não causará uma coagulação excessiva devido a essa inativação. Mas em contrapartida ela tende a conferir um sabor amargo ao produto final, o que não é desejado (Koblitz, 2019).

Outra aplicação para a pepsina na indústria é para a extração de colágeno e gelatina (colágeno parcialmente hidrolisado). Estudos realizados utilizando a pepsina para obtenção do colágeno mostraram que ela é capaz de extrair o colágeno de diversas fontes, tais como pescados (cioba, tambaqui, corvina, etc), subprodutos como pés de frango, entre outros, apresentando um ótimo rendimento nessa extração (Neri, 2017; Araújo, 2017).

4.3.1.6 Proteases fúngicas e bacterianas

Alguns fungos usados na indústria de alimentos para a obtenção de proteases são: *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus usamii*, entre outros. Tratando-se de proteases bacterianas, elas podem ser obtidas por microrganismo como *Bacillus licheniformis*, *Chryseobacterium sp*, *Bacillus subtilis* SMDFS 2B MN715837, entre outros (Okpara, 2022).

Em estudo realizado por Mamo *et al.* (2020), foram utilizadas uma protease fúngica e uma protease bacteriana para realizar a coagulação de leite para produção de queijo Danbo. As enzimas de origem fúngica e bacteriana utilizadas

foram provenientes de, respectivamente, *Aspergillus oryzae* DRDFS13MN726447 e *Bacillus subtilis* SMDFS 2B MN715837. Ao final obteve-se um produto ligeiramente firme e aceitável para o leite coagulado com a enzima fúngica, enquanto que o produto obtido através da ação de protease bacteriana se mostrou aguado, recebendo menor aceitação sensorial. O uso de protease fúngica permitiu um rendimento de 8,6%, valor próximo ao do queijo produzido a partir do coalho comercial, que teve um rendimento de 9%.

Na área de panificação, Deng *et al.* (2016) empregou uma protease obtida de *Aspergillus usarii* na hidrólise de glúten a fim de obter um produto final com melhor capacidade emulsificante. Com a hidrólise realizada por essa protease fúngica a atividade emulsificante passou de 18,05m²/g (glúten não hidrolisado) para 58,65m²/g após a hidrólise.

Daroit *et al.* (2019) obteve enzimas proteolíticas de *Bacillus sp.* CL18 e posteriormente aplicou essas enzimas em proteína isolada de soja a fim de melhorar características tecnológicas deste isolado protéico, como solubilidade e capacidade emulsificante. O uso das enzimas bacterianas obtidas foi capaz de aumentar tanto a atividade emulsificante quanto a solubilidade do isolado protéico de soja.

4.3.1.7 Proteases comerciais

As proteases comerciais são na verdade preparações enzimáticas que reúnem diversas enzimas proteolíticas em sua composição. Como exemplo de proteases comerciais tem-se a alcalase®, a flavourzyme®, a neutrase®, entre outras.

Em estudo realizado por Schmidt e Salas-Mellado (2009) foi realizada uma comparação entre o grau de hidrólise de amostras de carne de frango obtida através das enzimas alcalase® e flavourzyme®. A alcalase® é uma endopeptidase obtida a partir da bactéria *Bacillus licheniformis* através de fermentação submersa, tendo como principal componente a subtilisina, EC 3.4.21.62 (*Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology*, 2023b). Essa enzima foi inicialmente produzida pela empresa dinamarquesa atualmente denominada Novo Nordisk, para ser aplicada em detergentes para roupa (Schmidt; Salas-Mellado, 2009 *apud* Slyzyte, R *et al.*, 2005). Já a protease flavourzyme® é uma exopeptidase obtida também pelo processo de fermentação submersa,

realizada pela linhagem fúngica selecionada, e não geneticamente modificada, de *Aspergillus oryzae* (Schmidt; Salas-Mellado, 2009 *apud* Slyzyte, R *et al.*, 2005). Como resultado deste estudo teve-se que os hidrolisados proteicos obtidos a partir da alcalase® apresentaram maior grau de hidrólise do que aqueles obtidos através da enzima flavourzyme®.

A flavourzyme® tem como uma das principais aplicações a produção de compostos aromáticos a partir da hidrólise de proteínas, daí o nome “flavourzyme” (Merz *et al.*, 2015). Feng *et al.* (2014) realizaram um estudo onde utilizaram essa enzima para melhorar as propriedades sensoriais de linguiça chinesa e com isso as características de textura, sabor e aroma dessa linguiça foram melhor avaliadas após o tratamento com a flavourzyme®. Além disso, a capacidade antioxidante do produto também foi melhorada.

A neutrase® é uma protease obtida a partir do *Bacillus amyloliquefaciens* que hidrolisa de forma aleatória ligações internas de peptídeos, classificando-se assim como uma endopeptidase. Essa enzima possui como cofator o zinco, e por isso está no grupo das metaloproteases (Trinh, B. T.; Supawong, S., 2022). Pagán *et al.* (2013) utilizaram essa preparação comercial para realizar a hidrólise de proteínas encontradas no resíduo ósseo de porco advindo da produção de presunto, com o intuito de obter moléculas com maior valor agregado. A neutrase® se mostrou eficiente para a obtenção deste hidrolisado, gerando um produto final com potencial para uso como emulsificante e dispersante no preparo de molhos e sopas.

5 CONCLUSÃO

A aplicação de proteases é bastante vasta na indústria de alimentos, mas possui destaque nos setores de laticínios (mais especificamente para a produção de queijos), carne e panificação, sendo várias as peptidases que podem ser utilizadas em processos desses setores. O uso de enzimas proteolíticas muitas vezes se dá de forma conjunta, como é o caso da papaína e da bromelina para o amaciamento de carnes. Essa junção faz com que o processo de hidrólise seja melhorado, obtendo maior eficiência. Além disso, algumas dessas enzimas possuem funções que acabam se complementando, como a quimosina e a pepsina.

Em determinados casos é possível utilizar diferentes peptidases para um mesmo processo, como é o caso da coagulação do leite para produção de queijos. Como visto, várias proteases podem ser aplicadas para esse fim, mas o produto final obtido poderá apresentar características diferentes de acordo com a enzima utilizada.

Em relação à obtenção dessas enzimas, o uso de fungos e bactérias para esse fim vem permitindo a substituição de outras fontes menos vantajosas, seja por questões econômicas, ambientais, ou quaisquer outras, e por isso é importante o estudo de mais aplicações para essas proteases obtidas por microrganismos, comparando sua ação com enzimas que já são comumente utilizadas.

Novas aplicações para as proteases vêm sendo estudadas visando um maior aproveitamento de matérias-primas, como é o caso da utilização dessas enzimas para obtenção de isolados proteicos de subprodutos, e também de fontes não convencionais, como a proteína do grilo (*Gryllus assimilis*). Estudos como esses são de grande importância para que novas fontes possam ser melhor exploradas e, futuramente, possam vir a gerar novos produtos com maior valor agregado, tanto nutricional quanto economicamente falando. Essas questões mostram a relevância do estudo das enzimas proteolíticas, visto sua vasta aplicação atualmente e também seu potencial de utilização em outros produtos.

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, Íris Braz da Silva. **Valorização do subproduto "pés de frango": potencial tecnológico para sua utilização na indústria cárnea**. 2017. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2017. Disponível em: <https://repositorio.ufpb.br/jspui/handle/123456789/12740>. Acesso em: 09 nov. 2023.
- CERONI, Fábio Luis; VANIN, Adriana Biasi. Estudo cinético das enzimas hidrolases quimosina e lactase em leite bovino. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 2, p. 19040-19053, 2021. DOI: <https://doi.org/10.34117/bjdv7n2-515>.
- CHINNADURAI, Gandhi Shree; KRISHNAN, Sivakumar; PERUMAL, Palani. Studies on detection and analysis of proteases in leaf extract of medicinally important plants. **Phytomedicine**, v. 40, p. 176-188, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2018.01.011>.
- DAROIT, Daniel Joner *et al.* Produção de protease bacteriana e sua aplicação na hidrólise de proteína isolada de soja. **Jornada de Iniciação Científica e Tecnológica**, v. 1, n. 9, 2019. Disponível em: <https://portaleventos.uffs.edu.br/index.php/JORNADA/article/view/11162>. Acesso em: 11 nov. 2023.
- DENG, Lingli *et al.* Improvement of functional properties of wheat gluten using acid protease from *Aspergillus usarii*. **PLoS One**, v. 11, n. 7, p. e0160101, 2016. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0160101>.
- DENTI, Andressa Franco *et al.* Enzimas e suas aplicações com ênfase na indústria de alimentos. **Revista Perspectiva**, v. 46, n. 175, p. 51-68, 2022. Disponível em: <https://repositorio.cruzeirodosul.edu.br/handle/123456789/3521>. Acesso em: 29 set. 2023
- DENTI, Andressa Franco. Tecnologia enzimática: classificação, imobilização, suportes e aplicações. **Revista Perspectiva**, v. 45, n. 171, p. 97-110, 2021. DOI: <https://doi.org/10.31512/persp.v.45.n.171.2021.168.p.97-110>.
- ESPERANÇA, Victor Jonas da Rocha *et al.* Viabilidade do uso de papaína na obtenção de peptídeos antioxidantes de clara de ovo em pó. *In*: SIMPÓSIO DE ALIMENTOS E NUTRIÇÃO, 3., 2017, Campinas. **Anais eletrônicos**. Campinas: Galoá, 2017. <https://doi.org/10.17648/sian-2017-61511>.

FENG, Li *et al.* Effect of Flavourzyme on proteolysis, antioxidant capacity and sensory attributes of Chinese sausage. **Meat Science**, v. 98, n. 1, p. 34-40, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.04.001>.

FERREIRA, Juliana Ferrari *et al.* Purificação da enzima bromelina presente no curauá (*Ananas erectifolius* LB SMITH) variedade roxa, por sistema bifásico aquoso PEG 4000/fosfato de potássio. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 13, n. 5, p. 197-202, 2011. DOI: <https://doi.org/10.15871/1517-8595/rbpa.v13n2p197-202>

FERRIER, Denise R. **Bioquímica ilustrada**. 7. ed. Porto Alegre: Artmed, 2019. *E-book*. ISBN 9788582714867. Disponível em: <https://app.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788582714867/>. Acesso em: 15 out. 2023.

GROZDANOVIC, Milica M.; BURAZER, Lidija; GAVROVIC-JANKULOVIC, Marija. Kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) extract shows potential as a low-cost and efficient milk-clotting agent. **International Dairy Journal**, v. 32, n. 1, p. 46-52, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2013.03.001>.

GURUMALLESH, Poorani *et al.* A systematic reconsideration on proteases. **International journal of biological macromolecules**, v. 128, p. 254-267, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.01.081>.

HENRIQUES, Teresa. **Valorização do kiwi (*A. deliciosa*) de baixo calibre: extração de actinidina e sua aplicação na produção de hidrolisados de glúten**. 2014. Dissertação (Mestrado em Bioquímica e Bioquímica Alimentar) - Universidade de Aveiro, Aveiro, 2014. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10773/14517>. Acesso em: 07 nov. 2023

JUSTINA, Marciel Dela; JUSTINA, Mariléia Buss Dela; SKORONSKI, Everton. O uso das enzimas na indústria de laticínios: uma breve revisão. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 73, n. 3, p. 172-184, 2018. DOI: <https://doi.org/10.14295/2238-6416.v73i3.679>.

KOBLITZ, Maria Gabriela B. **Bioquímica dos Alimentos - Teoria e Aplicações Práticas, 2ª edição**. Rio de Janeiro: Grupo GEN, 2019. *E-book*. ISBN 9788527735261. Disponível em: <https://app.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788527735261/>. Acesso em: 26 out. 2023.

MACEDO, Paula Daiany G.; MATOS, Simone Pires de. **Bioquímica dos Alimentos - Composição, Reações e Práticas de Conservação**. 1. ed. São Paulo: Editora Saraiva, 2015. *E-book*. ISBN 9788536520810. Disponível em: <https://app.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788536520810/>. Acesso em: 15 out. 2023.

MACIEL, Amanda Rodrigues *et al.* Amaciantes Cárneos: tipos e aplicação em carne bovina. **DESAFIOS - Revista Interdisciplinar da Universidade Federal do**

Tocantins, v. 2, n. 1, p. 160-174, 2015. DOI:
<https://doi.org/10.20873/uft.2359-3652.2015v2n1p160>.

MAMO, Jermen *et al.* Application of milk-clotting protease from *Aspergillus oryzae* DRDFS13 MN726447 and *Bacillus subtilis* SMDFS 2B MN715837 for Danbo cheese production. **Journal of Food Quality**, v. 2020, p. 1-12, 2020.
<https://doi.org/10.1155/2020/8869010>.

MARZZOCO, Anita; BAYARDO, Baptista Torres. **Bioquímica Básica**. 4a ed. Rio de Janeiro:Grupo GEN, 2022. *E-book*. ISBN 978-85-277-2782-2. Disponível em:
<https://app.minhabiblioteca.com.br/#/books/978-85-277-2782-2/>. Acesso em: 11 dez. 2023.

MEROPS The Peptidase Database. **Structure for peptidase A01.006: chymosin**. 2023a. Disponível em: <https://www.ebi.ac.uk/merops/cgi-bin/structure?mid=A01.006>. Acesso em: 28 out. 2023.

MEROPS The Peptidase Database. **Structure for peptidase C01.001: papain**. 2023b. Disponível em: <https://www.ebi.ac.uk/merops/cgi-bin/structure?mid=C01.001>. Acesso em: 26 out. 2023.

MEROPS The Peptidase Database. **Structure for peptidase C01.007: actinidin**. 2023c. Disponível em: <https://www.ebi.ac.uk/merops/cgi-bin/structure?mid=C01.007>. Acesso em: 07 nov. 2023.

MERZ, Michael *et al.* Flavourzyme, an Enzyme Preparation with Industrial Relevance: Automated Nine-Step Purification and Partial Characterization of Eight Enzymes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, n.23. p. 5682–5693, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b01665>.

MONTEIRO, Valdirene Neves; SILVA, Roberto do Nascimento. Aplicações industriais da biotecnologia enzimática. **Revista processos químicos**, v. 3, n. 5, p. 9-23, 2009. DOI: <https://doi.org/10.19142/rpq.v3i5.83>.

MORAES, Iracema de O. **Biotecnologia industrial, vol. 4 - Biotecnologia na produção de alimentos**. 2. ed. São Paulo: Editora Blucher, 2021. *E-book*. ISBN 9786555061536. Disponível em:
<https://app.minhabiblioteca.com.br/#/books/9786555061536/>. Acesso em: 16 out. 2023.

MORDOR INTELLIGENCE. **Tamanho do mercado de enzimas industriais e análise de participação – tendências e previsões de crescimento (2023 – 2028)**. 2017. Disponível em:
<https://www.mordorintelligence.com/pt/industry-reports/industrial-enzymes-market>. Acesso em: 30 set. 2023.

NASCIMENTO, M. C. *et al.* Proteases e suas aplicações biotecnológicas nas indústrias alimentícias. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DA AGROINDÚSTRIA, 2., 2021, On-line. **Anais Ciagro 2021**. Recife: Instituto Internacional Despertando Vocações, 2021. DOI: <https://doi.org/10.31692/IICAGRO.0076>

NELSON, David L.; COX, Michael M.; HOSKINS, Aaron A.. **Princípios de Bioquímica de Lehninger v.1**. 8. ed. Porto Alegre: Artmed, 2022. *E-book*. ISBN 9786558820703. Disponível em: <https://app.minhabiblioteca.com.br/#/books/9786558820703/>. Acesso em: 29 set. 2023.

NERI, Robson Coelho de Araujo. **Extração e caracterização do colágeno obtido dos resíduos de processamento de Cioba (*Lutjanus analis*), Tambaqui (*Colossoma macropomum*) e Corvina (*Micropogonias furnieri*)**. 2017. Tese (Doutorado em Bioquímica e Fisiologia) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2017. Disponível em: <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/30759>. Acesso em: 09 nov. 2023.

NOMENCLATURE COMMITTEE OF THE INTERNATIONAL UNION OF BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY. **Classification and Nomenclature of Enzymes by the Reactions they Catalyse**. 2023a. Disponível em: <https://iubmb.qmul.ac.uk/enzyme/rules.html>. Acesso em: 25 out. 2023.

NOMENCLATURE COMMITTEE OF THE INTERNATIONAL UNION OF BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY. **EC 3.4.21.62**. 2023b. Disponível em: <https://iubmb.qmul.ac.uk/enzyme/EC3/4/21/62.html>. Acesso em: 21 nov. 2023.

NOMENCLATURE COMMITTEE OF THE INTERNATIONAL UNION OF BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY. **EC 3.4.22.14**. 2023c. Disponível em: <https://iubmb.qmul.ac.uk/enzyme/EC3/4/22/14.html>. Acesso em: 06 nov. 2023.

NOMENCLATURE COMMITTEE OF THE INTERNATIONAL UNION OF BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY. **EC 3.4.22.2**. 2023d. Disponível em: <https://iubmb.qmul.ac.uk/enzyme/EC3/4/22/2.html>. Acesso em: 26 out. 2023.

NOMENCLATURE COMMITTEE OF THE INTERNATIONAL UNION OF BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY. **EC 3.4.22.32**. 2023e. Disponível em: <https://iubmb.qmul.ac.uk/enzyme/EC3/4/22/32.html>. Acesso em: 26 out. 2023.

NOMENCLATURE COMMITTEE OF THE INTERNATIONAL UNION OF BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY. **EC 3.4.22.33**. 2023f. Disponível em: <https://iubmb.qmul.ac.uk/enzyme/EC3/4/22/33.html>. Acesso em: 26 out. 2023.

NOMENCLATURE COMMITTEE OF THE INTERNATIONAL UNION OF BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY. **EC 3.4.23.1**. 2023g. Disponível em: <https://iubmb.qmul.ac.uk/enzyme/EC3/4/23/1.html>. Acesso em: 06 nov. 2023.

NOMENCLATURE COMMITTEE OF THE INTERNATIONAL UNION OF BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY. **EC 3.4.23.4**. 2023h. Disponível em: <https://iubmb.qmul.ac.uk/enzyme/EC3/4/23/4.html>. Acesso em: 27 out. 2023.

NOMENCLATURE COMMITTEE OF THE INTERNATIONAL UNION OF BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY. **EC 3. Introduction**. 2023i. Disponível em: <https://iubmb.qmul.ac.uk/enzyme/EC3/intro.html>. Acesso em: 25 out. 2023.

NOMENCLATURE COMMITTEE OF THE INTERNATIONAL UNION OF BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY. **Enzyme Nomenclature**. 2023j. Disponível em: <https://iubmb.qmul.ac.uk/enzyme/>. Acesso em: 30 set. 2023.

OBISPO GAVINO, Elfer Orlando. **Uso de quimosina en el desarrollo de un método rápido de elaboración de leche condensada**. 2021. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) - Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión. Escuela de Posgrado, Huacho. Disponível em: <http://hdl.handle.net/20.500.14067/5327>. Acesso em: 23 nov. 2023.

OKPARA, Michael O. Microbial enzymes and their applications in food industry: a mini-review. **Advances in Enzyme Research**, v. 10, n. 1, p. 23-47, 2022. DOI: <https://doi.org/10.4236/aer.2022.101002>.

PACHECO, Thályta Fraga; MENDES, Thais Demarchi. **Guia prático para caracterização de enzimas**. Brasília: Embrapa Agroenergia, 2021. *E-book*. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/222428/1/Guia-pra769tico-para-a-caracterizac807a771o-de-enzimas.pdf>. Acesso em: 25 out. 2023.

PAGÁN, Jordi *et al.* Enzymatic hydrolysis kinetics and nitrogen recovery in the protein hydrolysate production from pig bones. **Journal of Food Engineering**, v. 119, n. 3, p. 655-659, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.06.040>.

PETLA, Gisele dos Santos. **Estudo da utilização das enzimas papaína e bromelina para hidrólise proteica em farinha de trigo**. 2022. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia Química) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, 2022. Disponível em: <http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/31304>. Acesso: 26 out. 2023.

SCHMIDT, Cristiano Gautério; SALAS-MELLADO, Myriam. Influência da ação das enzimas alcalase e flavourzyme no grau de hidrólise das proteínas de carne de frango. **Química Nova [online]**. v. 32, n. 5, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000500012>.

SILVA, Elisangela Teixeira da. **Estabilização de proteases para aplicação tecnológica**. 2013. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento de Processos

Ambientais) - Universidade Católica de Pernambuco, Recife, 2013. Disponível em: <http://tede2.unicap.br:8080/handle/tede/630>. Acesso em: 14 out. 2023.

SIMAS, Ana Lorena de Oliveira. **Estudo bioquímico de fitase, protease e xilanase produzidas por fungos filamentosos usando fontes de carbono alternativas: comparação com as enzimas comerciais e aplicação na alimentação animal.** 2023. Dissertação (Mestrado em Bioquímica e Biologia Molecular) - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2023. Disponível em: <https://repositorio.ufms.br/handle/123456789/5817>. Acesso em: 16 out. 2023.

TRINH, B. T.; SUPAWONG, S. Enzymatic Hydrolysis of Cricket (*Grylloides sigillatus*) Protein: Influence of Alcalase and Neutrane Enzyme on Functional Properties of Recovered Protein. **Thai Journal of Science and Technology**, v. 10, n.3, p. 342–353, 2022. DOI: <https://doi.org/10.14456/tjst.2021.27>.

VERMELHO, Alane Beatriz *et al.* Enzimas proteolíticas: Aplicações biotecnológicas. **Enzimas em biotecnologia - Produção, aplicações e mercado**, p. 273-287, 2008. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/233727171_Enzimas_proteoliticas_Aplicacoes_biotecnologicas. Acesso em: 08 set. 2023.

VIEIRA, Lígia Moura *et al.* Bromelina extraída do abacaxi - uma revisão. **Referências em Saúde do Centro Universitário Estácio de Goiás**, v. 3, n. 02, p. 53-60, 2020. Disponível em: <https://estacio.periodicoscientificos.com.br/index.php/rrsfesgo/article/view/167>. Acesso em: 26 out. 2023