

Lisboa 2003

Actas do 6º Encontro de Química de Alimentos - Volume I



Lisboa, Junho de 2003

# Novas Perspectivas sobre Conservação, Processamento e Qualidade de Alimentos

Actas do 6º Encontro de Química de Alimentos - Volume I



**IPIMAR**  
Instituto de Investigação das Pescas e do Mar



**Sociedade Portuguesa de Química**

INIAP 

Instituto Nacional de Investigação  
Agrária e das Pescas

C 012

## EFEITO DE CÁLCIO E TRATAMENTOS DE PRESSÃO NA HIDRÓLISE DE AMIDO PELA ENZIMA $\alpha$ -AMILASE

Saraiva, J.; Lourenço, L. G. e Jorge, N.

Universidade de Aveiro, Dep. de Química, 3810-193, Aveiro, Portugal,  
[jsaraiva@dq.ua.pt](mailto:jsaraiva@dq.ua.pt)

---

### RESUMO

O objectivo deste trabalho consistiu em estudar o efeito de alta pressão (100 MPa, 10 min.), à temperatura ambiente, na sensibilidade do amido à hidrólise pela enzima  $\alpha$ -amilase. Quantificou-se o efeito na sensibilidade à hidrólise, da pressurização do amido e da enzima, com diferentes concentrações de cálcio. Os resultados obtidos indicam que, dependendo das condições, a sensibilidade à hidrólise pode ser aumentada ou diminuída, o que tem implicações importantes para a indústria de hidrólise de amido e para o processamento por pressão de alimentos que contêm amido, devido a possíveis alterações de digestibilidade.

### 1. INTRODUÇÃO

A aplicação de altas pressões para processamento e modificação de alimentos é uma área de investigação emergente e de grande potencial futuro [1-3]. Os primeiros produtos alimentares processados por alta pressão surgiram no Japão em 1990-91, tendo o seu número e variedade vindo a aumentar consideravelmente nos últimos anos. As propriedades funcionais de alimentos e de macromoléculas podem ser alteradas pela pressão, com possíveis benefícios, tais como a obtenção de alimentos com novas características. Por ex., é possível obter géis a partir de amido ou proteínas com aplicação de altas pressões, os quais podem diferir nas suas propriedades, dos géis obtidos por aquecimento. A sensibilidade à hidrólise enzimática de celulose [4] e amido [5] pode também ser alterada por pressurização, permitindo, entre outras aplicações, melhorar a digestibilidade de proteínas normalmente pouco digeríveis. O processamento por alta pressão pode também (in)activar algumas enzimas, enquanto que a actividade de outras



enzimas não é influenciada pela pressão [6]. Considerando os possíveis efeitos que tratamentos de alta pressão podem causar nos alimentos e seus constituintes, torna-se imperativo o estudo do efeito da aplicação desta tecnologia em alimentos, no sentido de otimizar e desenvolver novos processos de conservação.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Neste trabalho usou-se a enzima  $\alpha$ -amilase de *Bacillus subtilis* (Fluka) e amido de batata (Panreac). O amido (1.3, 2.5 e 5.0 mg/mL, em água destilada) e a enzima (12.5  $\mu$ g/mL, em tampão acetato de sódio, pH 5,0) foram submetidos ao tratamento de pressão (100 MPa, 10 min.), embalados em sacos de plástico, sob vácuo, à temperatura ambiente numa prensa isostática. Os ensaios da actividade enzimática foram realizados a 25°C em triplicado (excepto nos casos em que se indique de outro modo), com uma concentração de enzima e amido de, respectivamente, 2.0  $\mu$ g/mL e 0.62 mg/mL, durante 10 min., após o que se adicionou ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) para inactivar a enzima. A determinação da actividade enzimática foi realizada pela quantificação dos açúcares redutores formados, por reacção com o DNS e medição da absorvância a 540 nm, com recurso a uma recta de calibração ( $R^2 = 0.99$ ). Para verificar se os efeitos causados pelos tratamentos de pressão, podiam ser afectados pelo tempo decorrido entre o processamento e a quantificação da actividade enzimática, amido submetido a 100 MPa durante 10 min. foi conservado a 4°C durante uma semana, após o que se determinou a actividade da enzima. Para estudar o efeito do cálcio, procedeu-se do mesmo modo, tendo-se pressurizado soluções de enzima (12.5  $\mu$ g/mL) e amido (5.0 mg/mL), que continham entre 0.05 e 0.75 M de  $\text{CaCl}_2$ .

Com o intuito de verificar se a alta pressão tem influência no processo enzimático de hidrólise em si, realizaram-se experiências em que amido e enzima, com a concentração final de, respectivamente, 2.0  $\mu$ g/mL e 0.62 mg/mL, foram misturados imediatamente antes do tratamento de pressão (100 MPa, 10 min.), tendo deste modo, o processo de hidrólise decorrido a 100 MPa. Neste caso, a hidrólise (em duplicado) a 100 MPa e o ensaio comparativo a 0.1 MPa foram realizados a 17.5°C (a temperatura do fluido da prensa isostática). Para estudar o efeito de multi-processamento, procedeu-se também ao processamento de uma solução de amido (5.0 mg/mL) duas vezes a 100 MPa, 10 min. cada, tendo sido a actividade quantificada em duplicado.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 1 apresentam-se os resultados obtidos para a actividade da enzima com amido tratado por alta pressão, imediatamente depois do processamento e após uma semana de armazenamento a 4°C. O tratamento de pressão aplicado aumentou significativamente ( $P < 0.05$ ) a actividade da enzima, entre 7 e 20%, relativamente ao caso do amido não processado. Quer a concentração a que o amido foi processado, quer o armazenamento a 4°C, não tiveram qualquer influência ( $P > 0.05$ ) na sua susceptibilidade à hidrólise enzimática.

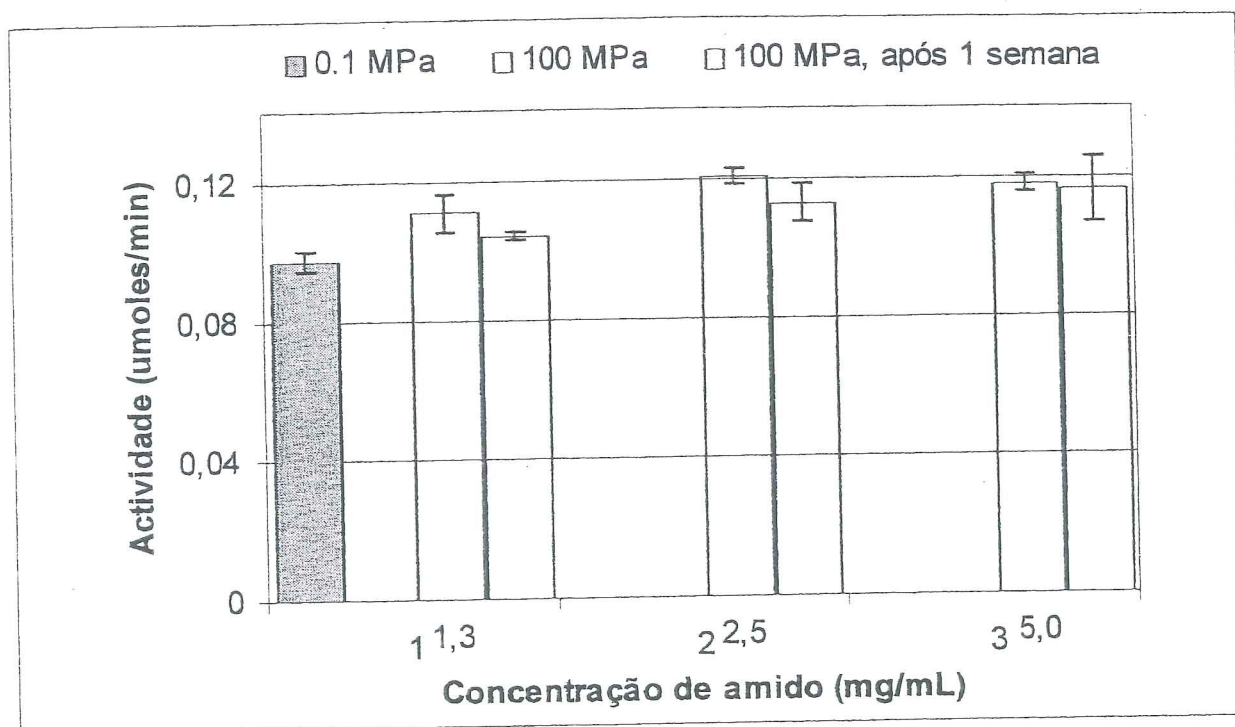


Figura 1. Efeito de processamento de amido (100 MPa, 10 min.) na sua sensibilidade à hidrólise (as barras de erro representam o intervalo de confiança de 95%).

No caso do amido pressurizado na presença de cálcio (Figura 2), verificou-se que a sensibilidade do amido à hidrólise não foi, globalmente, afectada pela pressão. Este resultado indica que a presença de cálcio durante o processamento, anula o efeito do aumento da susceptibilidade à hidrólise causado pelo tratamento de alta pressão.

Para a enzima submetida à alta pressão na presença de cálcio, ocorreu uma diminuição da actividade (Figura 3), à excepção do caso com 3 M de  $\text{CaCl}_2$ , indicando uma possível inactivação da enzima causada pelo tratamento de pressão.

Quando o processo de hidrólise decorreu a 100 MPa, verificou-se um aumento de actividade de cerca de 40%, relativamente à hidrólise realizada a 0.1 MPa.



Contudo, como devido ao aquecimento adiabático, se verifica um aumento da temperatura de cerca de 2-4°C/100 MPa, esta variação pode ser devida, pelo menos parcialmente, ao efeito da temperatura no aumento da actividade. Para verificar esta possibilidade, estudou-se o efeito da temperatura na actividade da enzima a 0.1 MPa. Considerando um aumento de temperatura de 3°C/100 MPa, e o seu efeito na actividade da enzima a 0.1 MPa, não se verificou nenhuma diferença entre a actividade da enzima a 100 e a 0.1 MPa.

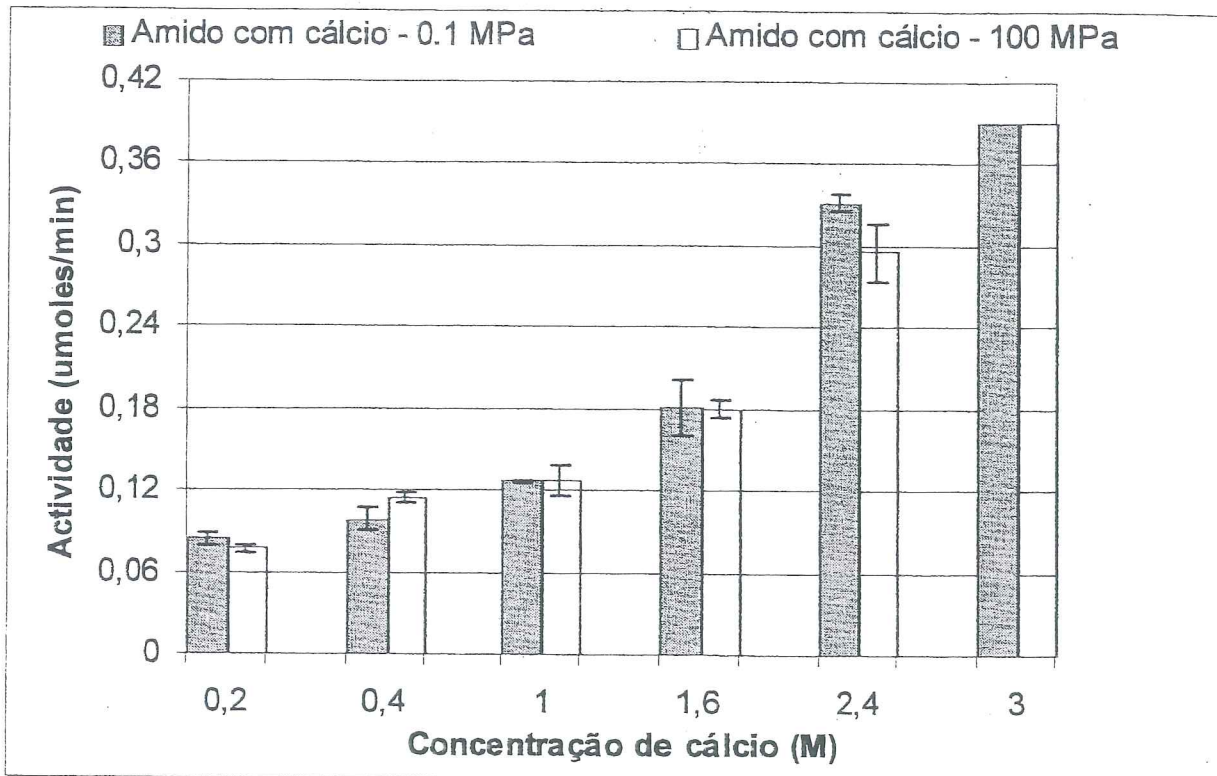
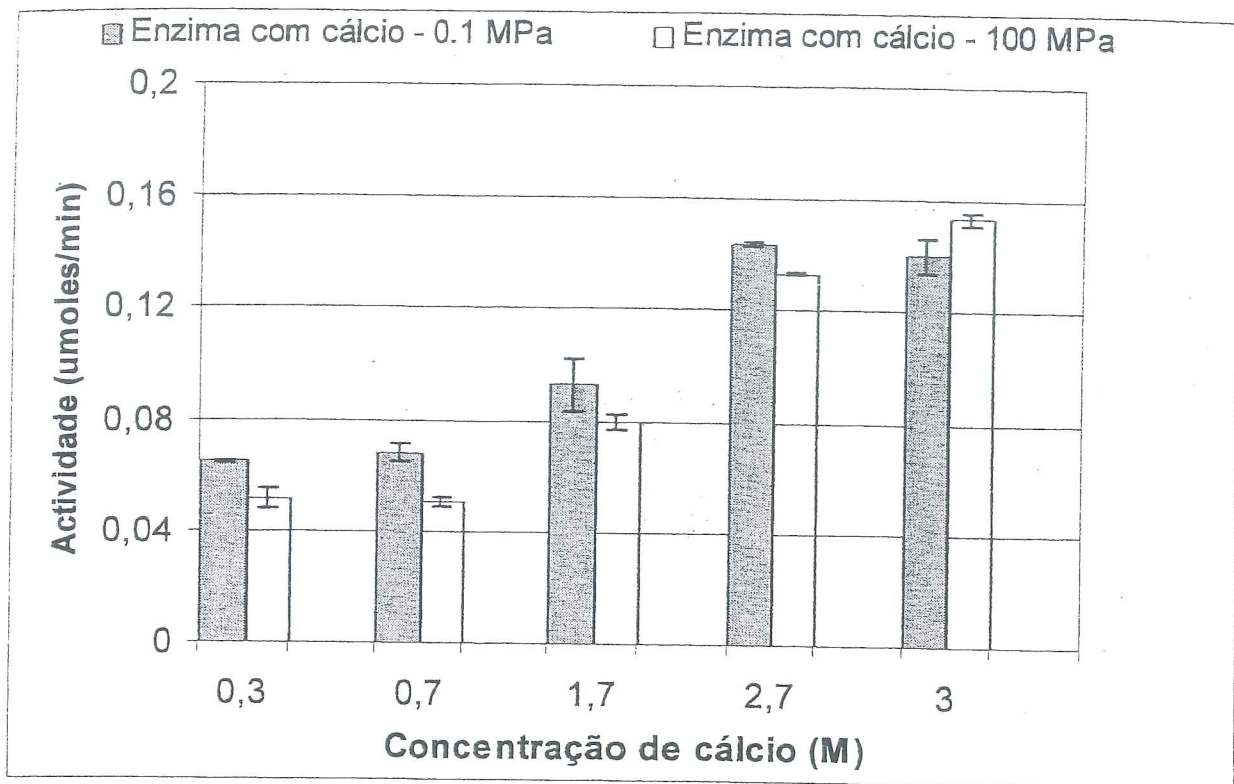


Figura 2. Efeito de processamento de amido (100 MPa, 10 min.), com várias concentrações de  $\text{CaCl}_2$ , na sua sensibilidade à hidrólise (as barras de erro representam o intervalo de confiança de 95%).



**Figura 3.** Efeito de processamento da enzima  $\alpha$ -amilase (100 MPa, 10 min.), com várias concentrações de  $\text{CaCl}_2$ , na sua actividade (as barras de erro representam o intervalo de confiança de 95%).

No amido submetido a dois ciclos de processamento de 100 MPa com a duração de 10 min. cada, a actividade enzimática teve uma redução de cerca de 85%, indicando um aumento muito pronunciado na resistência do amido à hidrólise.

#### 4. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste trabalho indicam que o processamento de amido por alta pressão (100 MPa, 10 min.), aumenta a sua susceptibilidade à hidrólise pela enzima  $\alpha$ -amilase, enquanto que na presença de cálcio não tem qualquer efeito. Contudo a aplicação de dois tratamentos de alta pressão (100 MPa, 10 min.) aumenta consideravelmente a resistência do amido à hidrólise. Por outro lado, quando a hidrólise decorreu dentro do vaso de pressão, a 100 MPa, não se verificou nenhum efeito na sensibilidade à hidrólise do amido, comparando com a hidrólise efectuada a 0,1 MPa (pressão atmosférica). Estes resultados indicam que é imperativo estudar o efeito de processamentos de alta pressão em alimentos, para se verificar a possível ocorrência de situações de alteração de digestibilidade do amido e relacionar a variação da sensibilidade do amido à hidrólise com possíveis modificações na sua conformação.

## 5. BIBLIOGRAFIA

- [1] BARBOSA-CÁNOVAS, G.; GOULD, G. W., 2000. Emerging technologies in food processing in the last 40 years. *In: Innovations in Food Processing*. Technomic Publishing Company, Inc., Lancaster, pp 1-29.
- [2] KNORR, D., 1999. Novel approaches in food-processing technology: new technologies for preserving foods and modifying function. *Current Opinion in Biotechnology*, 10: 485-489.
- [3] CHEFTEL, J. C., 1995. Review: High pressure, microbial inactivation and food preservation. *Food Science and Technology International*, 1 (2-3): 75.
- [4] MURAO, S.; NOMURA, Y.; YOSHIKAWA, M.; SHIN, T.; OYAMA, H.; ARAI, M., 1992. Enhancement of activities of cellulases under high hydrostatic pressure. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 56 (8): 1366-1367.
- [5] GOMES, M. R. A.; LEDWARD, D. A., 1996. Effect of high pressure treatment on the activity of some polyphenoloxidases. *Food Chemistry*, 56 (1): 1-5.
- [6] HENDRICKX, M.; LUDI KHUYZE, L.; VAN DEN BROECK, I.; WEEMAES, C., 1998. Effects of high pressure on enzymes related to food quality. *Trends in Food Science and Technology*, 9: 197-203

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Departamento de Engenharia do Vidro e Cerâmica da Universidade de Aveiro pelo uso da prensa isostática.