

BIOTECNOLOGIA
NA
INDÚSTRIA DE ALIMENTOS

Alda Luiza S. Lerayer

alerayer@ital.org.br

**Centro de Pesquisa e Desenvolvimento
de Laticínios TECNOLAT - ITAL**

INDÚSTRIA DE ALIMENTOS

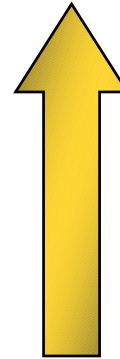


ANIMAIS

Estudos de doenças humanas e genéticas, produção de proteínas terapêuticas humanas no leite

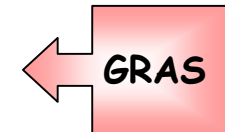
PLANTAS

tomate, batata, milho canola, algodão, soja, abóbora, etc



MICROORGANISMOS E SEUS INSUMOS

Leveduras
Fungos filamentosos
Bactérias
Aditivos: edulcorantes, acidulantes, vitaminas, corantes, espessantes, etc.





milho



bactérias

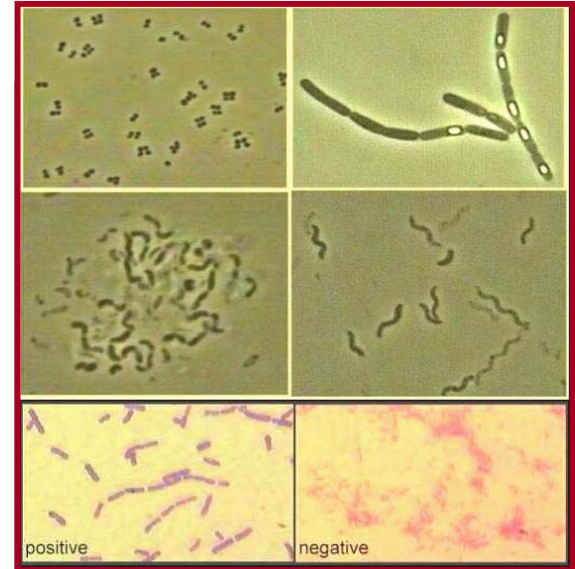


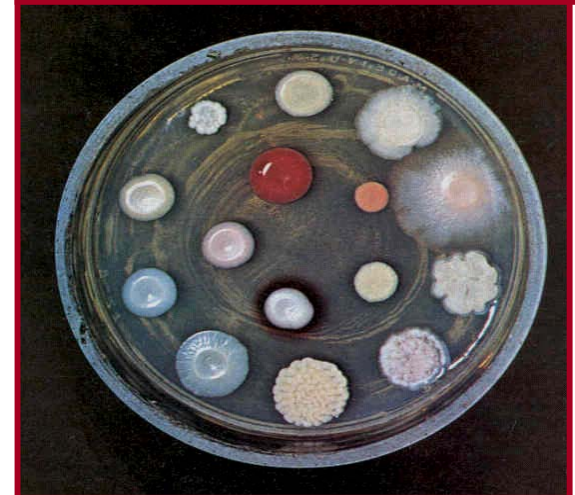
Fig. 1. To increase the genetic diversity of U.S. maize, the Germplasm Enhancement for Maize (GEM) project seeks to combine exotic germplasm, such as this unusual maize from Mexico, with domestic maize lines. Photo courtesy of the USDA Agricultural Research Service Photo Service.

Diversidade Genética

soja



fungos



Utilização de técnicas de rDNA aplicadas a animais:

- Produção de itens biológicos e farmacêuticos;
- Otimização do valor nutricional de alimentos derivados;
- Melhoramento da taxa anual de crescimento e reprodução;
- Prevenção de doenças;
- Seleção de linhagens superiores;
- Identificação de indivíduos;
- Preservação de estoques genéticos;



1ª Geração de Plantas GMs:

**Introdução de um gene de resistência:
herbicidas insetos pragas**

||→ Objetivos:

**redução dos custos de produção; maior
rendimento**

**(redução do uso de defensivos agrícolas, proteção do
solo, redução de contaminação da água, redução de
micotoxinas → produto mais seguro)**

Tipos de Plantas Geneticamente Modificadas para Características de Qualidade Aprovadas para Testes de Campo nos EUA em 2001



Plantas	Característica Qualitativa
Alfafa	Redução da lignina, atraso na maturação
Maçã	Aumento de açúcar, maturação alterada, metabolismo de carboidrato alterado
Cevada	Enzimas termostáveis, nova proteína, armazenamento protéico alterado, pontes dissulfídicas reduzidas, digestibilidade aumentada
Brócolis	Vida comercial prolongada
Canola	Perfil de ácido graxo alterado, aumento de lisina, composição de aminoácidos alterada
Cenoura	Propriedade nutricional melhorada
Mandioca	Propriedade nutricional melhorada
Café	Retardamento no amadurecimento, redução de cafeína.
Milho	Alteração do metabolismo de carboidratos; aumento de metionina, lisina e triptofano; alteração na composição dos aminoácidos; aumento da qualidade protéica; alteração no perfil do óleo; diminuição de fitato e lignina; aumento do fosfato e antocianina nas sementes; inibição da produção de micotoxinas
Algodão	Aumento da durabilidade e qualidade das fibras
Uva	Qualidade do fruto melhorada
Alface	Resistência a doenças, retardamento de senescência
Melão	Maturação retardada
Mamão	Maturação retardada
Pêra	Alteração na maturação
Pimentas	Maturação retardada, aumento da vida de prateleira
Abacaxi	Aumento do sabor adocicado
Ameixa	Maturação retardada
Batata	Aumento de sólidos, carboidratos, melhoria da qualidade nutricional, aumento de tirosina, alteração dos aminoácidos, resistência a doenças, diminuição de glicoalcalóides
Arroz	Proteína alterada, produção de nova proteína, aumento de amido.
Soja	Qualidade protéica melhorada, aumento de metionina e lisina, melhoria da qualidade de alimentos para animais, introdução de nova proteína, qualidade do óleo alterada, aumento de fitosteróis e degradação de fumonisina
Morango	Maturação retardada
Girassol	Proteína alterada, melhoria da qualidade de alimentos para animais
Batata doce	Composição dos aminoácidos alterada, melhora na qualidade protéica
Tomate	Amadurecimento retardado, aumento de amido e sólidos, perfil de açúcar e pigmentação alterados, aumento do tamanho dos frutos, conteúdo de carotenóide alterado, qualidade da proteína alterada, aumento de enzimas oxidantes
Trigo	Proteína alterada, digestibilidade melhorada, aumento de metionina, qualidade nutricional melhorada, introdução de nova proteína

SEGUNDA E TERCEIRA GERAÇÕES DE PLANTAS GMs

- **Enriquecimento nutricional**
- **Melhoramento das propriedades tecnológicas**
- **Aumento do conteúdo de micronutrientes**
- **Enriquecimento de compostos biologicamente ativos**
- **Modificação de funções**

culturas *starter*;
flavour, (sabor e
aroma); proteólise;
autólise; produtos
probióticos; inibição
de microrganismos
deterioradores e
patogênicos

Limitações para o uso da tecnologia genética em certos alimentos



**A maioria dos produtos lácticos contém
altos níveis de bactérias viáveis**

- a definição legal de iogurte em muitos países inclui a presença de bactérias viáveis (vivas)
- probióticos somente podem exercer sua ação benéfica se as bactérias forem viáveis



food-grade (definição estrita)

- As linhagens resultantes devem conter somente DNA naturalmente presente na mesma espécie. *i.e.* não transgênico.
- Pequenas regiões de DNA sintético são aceitáveis.
- Linhagens intermediárias podem conter DNA de outras espécies, desde que ele DNA seja removido na linhagem final.



© Johansen (1999) *Encyclopedia of Food Microbiology* pp 917-921.

Vantagens das enzimas produzidas por microrganismos GMs

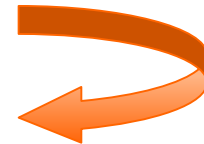


CIB Conselho de Informações sobre Biotecnologia

Maior disponibilidade: por motivos econômicos, ocupacionais ou ambientais não estariam disponíveis, permitindo novas aplicações.

Maior eficiência: modificação genética → melhor taxa metabólica e de conversão → produção mais econômica

menor uso de energia e matéria-prima e menos resíduos.



Maior pureza: Ex: A quimosina GM tem 95% de pureza e, a bovina, 75%.

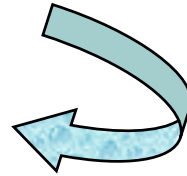
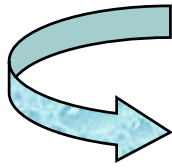
Maior segurança: microorganismo produtor da enzima GM pode ser mais seguro para alimentos.

Redução de potencial alergênico e reações tóxicas: obtidas com a modificação da seqüência da enzima.

Quimosina

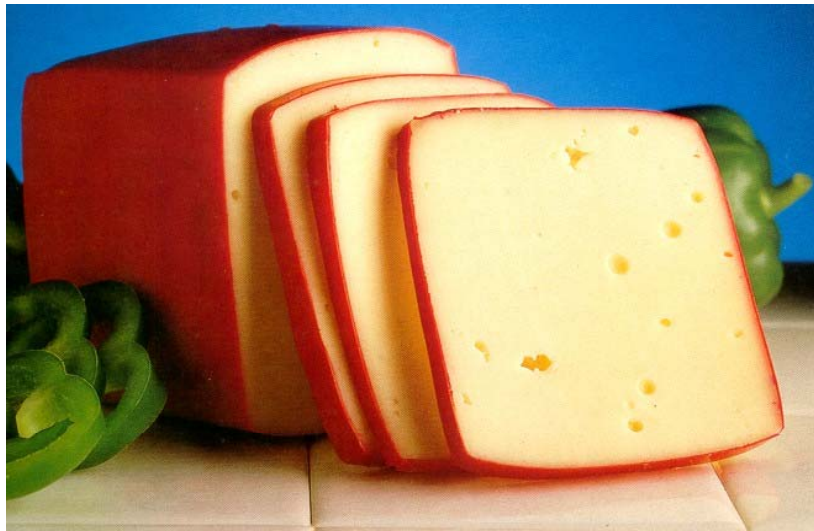
Cultura láctica

coagulação

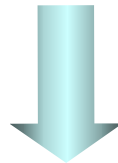


proteases
peptidases
autolisina

Enzima proteolítica:
pode
reduzir o
tempo de
maturação:
economia de
US\$ 50
milhões



Maturação



Autólise, Proteólise, Lipólise
Compostos aromáticos

PUREZA E IDENTIDADE

- Alto grau de pureza e qualidade:
- não possui enzimas contaminantes (pepsina, normalmente encontrada no coalho de estômago de bezerros)
- não possui resíduos de DNA/RNA
- não possui resíduos dos organismos de produção
- aprovação por série de testes toxicológicos
(aprovada pelo FDA e UE)

Enzima	Aplicações
α - Acetolactato decarboxilase	Bebidas
α - Amilase	Cereais, amido, bebidas, alimentação animal, frutas, vegetais, açúcar e mel, entre outros
Catalase	Leite e maionese
Quimosina	Queijos
Ciclodextrina glicosil transferase (CGTase)	Cereais e amido
α - Galactosidases	Alimentação animal
β - Glucanases	Cereais, amido, alimentação animal e alimentos dietéticos, entre outros
Glucose isomerase	Cereais e amido
Glucose oxidase	Ovos, bebidas, confeitos e saladas
Hemicelulase	Confeitos
Lipase	Óleos, gorduras, confeitos e alimentação animal
Amilase maltogênica	Cereais, amido, bebidas e confeitos
Pectinase	Bebidas (sucos de frutas)
Fitase	Alimentação animal
Protease	Queijo, carne, peixe, cereais, amido, bebidas, confeitos, saladas e alimentação animal
Pululanase	Cereais, amido, bebidas e confeitos
Xilanase	Confeitos, cereais, amido e alimentação animal

Aceitação de enzimas obtidas por rDNA em alimentos

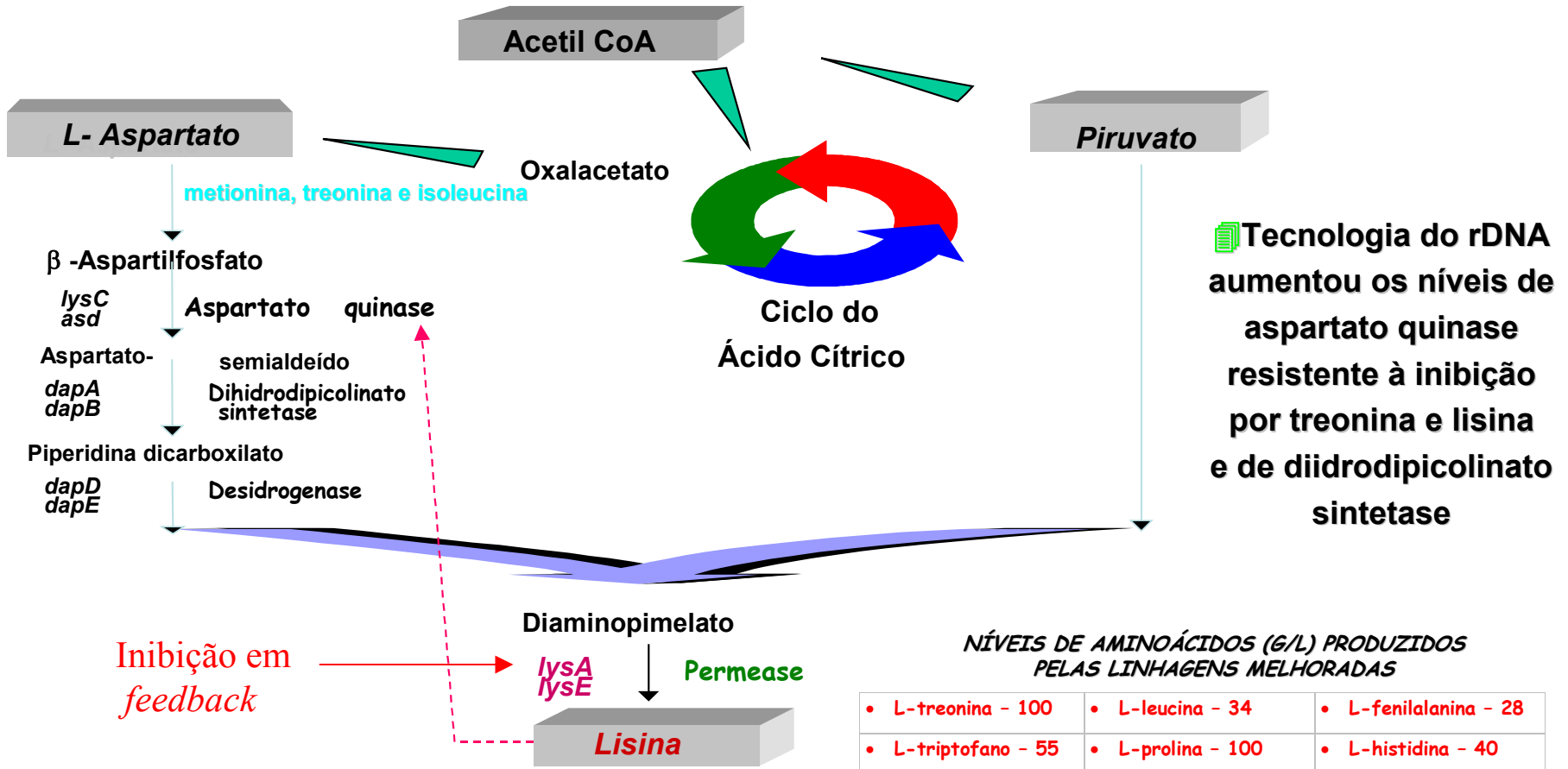
É baseada nos seguintes fatos:

- 1. Enzimas produzidas por técnicas de rDNA são idênticas às convencionais (ex: quimosina)**
- 2. As preparações de enzimas estão livres de qualquer substância deletéria que pudesse ser introduzida durante os passos de bioprocessamento e de purificação (ex: endotoxinas de *E.coli*)**
- 3. Microrganismo GM viável: produtor da enzima não está presente no final da preparação**

Biossíntese de Lisina

Corynebacterium glutamicum

Produção industrial de lisina: 120g/l



NÍVEIS DE AMINOÁCIDOS (G/L) PRODUZIDOS PELAS LINHAGENS MELHORADAS

• L-treonina - 100	• L-leucina - 34	• L-fenilalanina - 28
• L-triptofano - 55	• L-prolina - 100	• L-histidina - 40
• L-isoleucina - 40	• L-valina - 31	• L-lisina - 170
• L-tirosina - 26	• L-arginina - 100	

SABORES E AROMAS

♦ Quase todas as macromoléculas presentes nos alimentos têm impacto no *flavour* quando hidrolisam: **gorduras, proteínas e ácidos nucleicos.**

Setores da indústria de alimentos que usam saborizantes:
embutidos, snacks, biscoitos, molhos, sopas e derivados de tomate, entre outros.

São conhecidos 16.400 fragrâncias e *flavours*
Mercado avaliado em US\$ 12 bilhões

Mais consumidos no mercado brasileiro:

- ↗ glutamato monossódico (MSG)
- ↗ proteína vegetal hidrolisada
- ↗ extrato de levedura

Consumo aumentou muito porque:

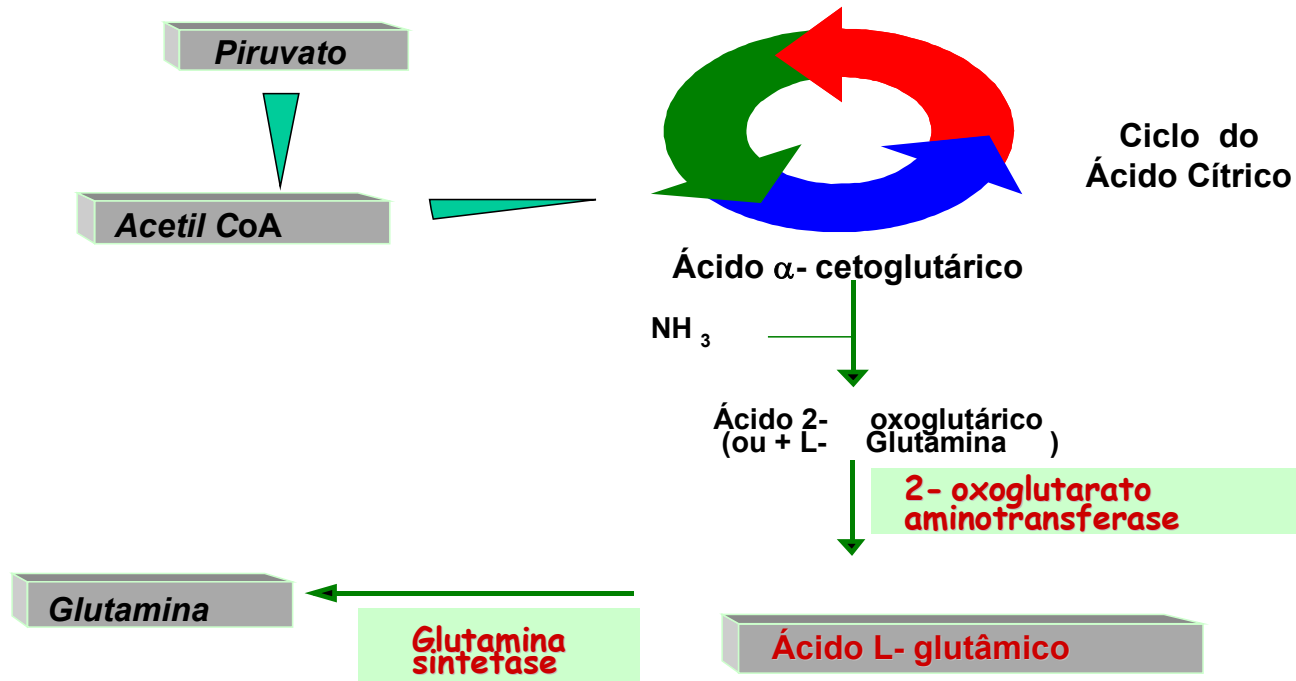
- os realçadores de sabor melhoram a qualidade do aroma, e
- maximizam esta sensação a baixos custos

Busca de novos produtos e bioprocessos nessa área é incrementada por:

- ↗ mercado crescente
- ↗ conscientização do público no que tange à salubridade e segurança química dos ingredientes para alimentos
- ↗ conscientização pública crescente das características nutricionais da dieta

Biossíntese de Glutamato

Principal aminoácido comercial ▶ 2,1 bilhões de Kg são produzidas anualmente
 Mercado cresce 6% ao ano por fermentação



Corynebacterium glutâmico

- *Brevibacterium* (*B. flavum* e *B. lactofermentum*)
- *Micrococcus*
- *Microbacterium* *Artrobacter*

ÁCIDO CÍTRICO

Fungos filamentosos:

Aspergillus niger - 100 g/l

Leveduras: *Candida* - 225 g/l de ácido cítrico e isocítrico

Produção por biotecnologia: 2,2 bilhões Kg/ano

Mercado mundial: US\$ 1,4 bilhões

BETACAROTENO

→ protege os microrganismos contra danos foto-oxidativos

Fungos e Leveduras

astaxantina (róseo-alaranjada)

↳ Mercado mundial em 2000:

US\$ 150 milhões (aquacultura e avicultura)

→ *Flavobacterium* sp: *zeaxantina*. Operon do seqüenciado e clonado → Produção melhorada de *zeaxantina* e outros carotenóides



Vitaminas

1. Ribloflavina- B2

• **Microorganismos:** • *Eremothecium ashbyii* e *Ashbya gossypii*: > 20 g/l

• *Candida* sp e *B. subtilis* – 30 g/l

• Linhagens superprodutoras de *Bacillus* → genética clássica

2. Cianobalanina - B12

• **Microorganismos:** *Propionibacterium shaermanii*, *Pseudomonas denitrificans*

• **Produção:** 150mg/l

• **Valor de mercado:** US\$ 71 milhões

3. Biotina

• **Microorganismo:** *Serratia marcescens*

• **Melhoramento:** mutagênese e clonagem molecular → produção de 600 mg/l

- **Derivados da Soja:** óleo, lecitina, isolados protéicos, mono e diglicerídeos, etc.
- **Derivados do milho:** óleo, amido, farinha, dextrose e xarope de frutose, entre outros
- **Microorganismos:** células e aditivos

Aproximadamente 90% de todos os alimentos processados contêm pelo menos um ingrediente que pode ser derivado de soja, milho ou microorganismo GM