



AMANDA LUIZA SOUSA DE CAMARGO ROMA

**TECNOLOGIAS PARA A INATIVAÇÃO DE LIPOXIGENASE
EM ALIMENTOS: UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

**LAVRAS - MG
2021**

AMANDA LUIZA SOUSA DE CAMARGO ROMA

**TECNOLOGIAS PARA A INATIVAÇÃO DE LIPOXIGENASE
EM ALIMENTOS: UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

Monografia apresentada ao Departamento de
Ciência dos Alimentos da Universidade Federal
de Lavras, como parte das exigências do curso
de Engenharia dos Alimentos para obtenção do
título de Bacharel em Engenharia de Alimentos.

Prof. Dra. Lizzy Ayra Alcântara Veríssimo
Orientadora

Ma. Bruna Vieira Nunes
Coorientadora

LAVRAS – MG

2021

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Roma, Amanda Luiza Sousa de Camargo.

Tecnologias para a inativação de lipoxigenase em alimentos:
uma revisão bibliográfica / Amanda Luiza Sousa de Camargo
Roma. - 2021.

37 p.: il.

Orientador(a): Lizzy Ayra Alcântara Veríssimo.

Coorientador(a): Bruna Vieira Nunes.

TCC (graduação) - Universidade Federal de Lavras, 2021.

Bibliografia.

1. Enzimas. 2. Lipoxigenase. 3. Técnicas emergentes. I.
Veríssimo, Lizzy Ayra Alcântara. II. Nunes, Bruna Vieira. III.
Título.

AMANDA LUIZA SOUSA DE CAMARGO ROMA

**TECNOLOGIAS PARA A INATIVAÇÃO DE LIPOXIGENASE
EM ALIMENTOS: UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

Monografia apresentada ao Departamento de
Ciência dos Alimentos da Universidade Federal
de Lavras, como parte das exigências do curso
de Engenharia dos Alimentos para obtenção do
título de Bacharel em Engenharia de Alimentos.

APROVADA em 26 de novembro de 2021.

Dra. Lizzy Ayra Alcantara Veríssimo

Ma. Bruna Vieira Nunes

Dr. Bruna de Souza Nascimento

Prof. Dra. Lizzy Ayra Alcântara Veríssimo
Orientadora

LAVRAS – MG

2021

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais que me proporcionaram a vida e essa realização. Em especial a minha mãe que sempre foi minha inspiração acadêmica, minha força e a base para que eu conquistasse minha formação.

À minha avó que sempre em que eu estava cansada me dava forças para continuar e seguir em frente com os estudos.

Aos meus irmãos que sempre me incentivaram e foram minha inspiração como aluna e pessoa.

À minha orientadora Lizzy, que sempre teve paciência e me incentivou a fazer o melhor trabalho possível.

Aos docentes do DCA, em especial Vanessa e Bruna pelos ensinamentos, direcionamento e companheirismo durante os dias de pesquisa que foram importantíssimos para realização deste trabalho.

À Universidade Federal de Lavras por ter me proporcionado tanto conhecimento durante esses anos e por representar meu maior desafio concluído! Obrigada, tenho muito orgulho de ser UFLA!

Aos meus amigos do PET que fizeram dos dias de graduação um enorme aprendizado tanto profissional quanto pessoal.

Aos meus amigos que estiveram comigo durante a graduação de Engenharia de Alimentos. As que estiveram comigo desde o começo em Sete Lagoas Meiry e Quele. As que estiveram comigo na fase de mudança e recomeços em Lavras Letícia e Fabiana, e as que estiveram comigo no final e que me ampararam e me incentivaram a finalizar esse ciclo Letícia e Bruna.

MUITO OBRIGADA!

RESUMO

A enzima lipoxigenase (LOX, EC 1.13.11.12), amplamente distribuída em tecidos vegetais, é responsável pela deterioração de diversas matrizes alimentares. Dentre alguns efeitos indesejáveis está a destruição de ácidos graxos essenciais, desenvolvimento de sabores estranhos e degradação da cor de legumes e vegetais. Esta enzima é utilizada como indicadora de eficiência das técnicas de processamento devido aos efeitos indesejáveis que causa aos alimentos, aliada à sua alta resistência ao calor. O tratamento térmico convencional, amplamente utilizado na inativação da LOX, emprega altas temperaturas que podem acarretar na desnaturação de proteínas e degradação de aminoácidos e vitaminas termossensíveis. Tecnologias emergentes térmicas e não térmicas, como a radiofrequência e a alta pressão, tem sido empregadas para inativação da LOX. Estas tecnologias levam a obtenção de produtos minimamente processados e com alta qualidade, em comparação ao tratamento térmico convencional. Posto isto, esta revisão bibliográfica busca apresentar um panorama das técnicas que têm sido utilizadas na inativação da LOX e levantar perspectivas para estudos futuros. A metodologia utilizada foi a prospecção e seleção de artigos científicos dos últimos 20 anos, pertinentes na área de tecnologia de alimentos e com alto fator de impacto. Foi possível observar que todas as técnicas apresentadas atingiram uma inativação de mais de 80% da atividade enzimática da LOX e, portanto, se mostraram eficientes e promissoras. Esta revisão bibliográfica abriu perspectiva para novos estudos de tratamentos emergentes e matrizes alimentícias que podem ser avaliadas quanto à inativação da LOX.

Palavras-chave: Enzimas. Inativação. Técnicas emergentes.

ABSTRACT

The lipoxygenase enzyme (LOX, EC 1.13.11.12), widely distributed in plant tissues, is responsible for the deterioration of several food matrices. Among some undesirable effects are the destruction of essential fatty acids, development of off-flavours and color degradation of vegetables and vegetables. This enzyme is used as an indicator of the efficiency of processing techniques due to the undesirable effects it causes to food, together with its high resistance to heat. Conventional heat treatment, widely used in LOX inactivation, employs high temperatures that can lead to protein denaturation and degradation of thermosensitive amino acids and vitamins. Emerging thermal and non-thermal technologies, such as radio frequency and high pressure, have been employed to inactivate LOX. These technologies lead to obtaining products that are minimally processed and with high quality, compared to conventional heat treatment. That said, this bibliographical review seeks to present an overview of the techniques that have been used to inactivate LOX and raise perspectives for future studies. The methodology used was the prospection and selection of scientific articles from the last 20 years, relevant in the area of food technology and with a high impact factor. It was possible to observe that all the presented techniques reached an inactivation of more than 80% of the enzymatic activity of LOX and, therefore, they proved to be efficient and promising. This literature review opened perspective for new studies of emerging treatments and food matrices that can be evaluated for LOX inactivation.

Keywords: Enzyme. Inactivation. Emerging techniques.

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

Ea - Energia de ativação

EHS - Extrato Hidrossolúvel de Soja

HPPH - Alta Pressão Hidrostática

Inc – Inibidores não competitivos

Ic – Inibidores Competitivos

LOX - Lipoxigenase

PL - Luz Pulsada

PEF – Campo elétrico pulsado

PME – Pectimetilesterase

POD – Peroxidase

PPO - Polifenoloxidase

PUFA - Ácidos graxos poli-insaturados

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Etapas seguidas para realização da revisão de literatura.....	14
Figura 2 – Diagrama mostrando a variação de energia livre em função do caminho da reação com catalisador e sem catalisador.....	16
Figura 3 – Ligação de um substrato no sítio ativo de uma enzima.....	17
Figura 4 – Mudança da conformação da ligação enzima-substrato. Exemplo da hexoquinase antes (a) e depois (b) de se ligar ao substrato, a glicose.....	18
Figura 5 – Taxa de reação em função da presença ou não de inibidores.....	19
Figura 6 – Efeito do pH, temperatura e concentração de substrato sobre a atividade enzimática.....	20

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Inativação da lipoxigenase em diferentes matrizes alimentares.....	27
---	----

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	12
2 OBJETIVOS.....	13
2.1 Objetivo Geral.....	13
2.2 Objetivos Específicos.....	13
3 METODOLOGIA.....	14
4 REFERENCIAL TEÓRICO.....	15
4.1 Enzimas.....	15
4.2 Lipoxigenase em Alimentos.....	21
4.2.1 Alterações Sensoriais Promovidas pela Lipoxigenase em Alimentos.....	22
4.3 Tratamentos Empregados na Inativação da Lipoxigenase.....	24
4.3.1 Tratamento Térmico.....	24
4.3.2 Técnicas Emergentes.....	26
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	34
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	34

1 INTRODUÇÃO

A enzima lipoxigenase (E.C. 1.13.11.12, linoleato: oxigênio oxidoreductase) é classificada como EC1, grupo das enzimas oxidoreductase e atua somente sobre os ácidos graxos que possuem um sistema pentadieno (C=C-C-C=C). Desta forma, a lipoxigenase catalisa a oxidação das moléculas de ácidos graxos poliinsaturados contendo a configuração cis, cis-1,4-pentadieno (GUERRERO-BELTRÁN, ESTRADA-GIRÓN, SWANSON, & BARBOSA-CÁNOVAS, 2009).

A LOX (enzima lipoxigenase) está amplamente distribuída em tecidos vegetais, especialmente em legumes e vegetais, e está relacionada à produção de aldeídos, cetonas e outros compostos que causam a deterioração dos alimentos (LUDIKHUYZE et al., 1998; SHI et al., 2020). A reação enzimática da LOX pode resultar em alguns efeitos indesejáveis, como degradação de ácidos graxos essenciais, desenvolvimento de sabores estranhos e alterações da cor (JANVE et al., 2014; MIN; MIN; ZHANG, 2003).

O calor é o método mais comumente empregado na inativação da LOX durante o processamento de leguminosas e vegetais. Esta enzima é utilizada como indicadora de eficiência do tratamento térmico devido aos efeitos indesejáveis que causa aos alimentos, aliada à sua alta resistência ao calor. Embora o tratamento térmico inative a LOX, durante o processo também pode ocorrer a desnaturação de proteínas levando à perda de sua funcionalidade e/ou solubilidade. Certos sabores, cores, vitaminas e nutrientes também podem ser afetados pelo calor (BAHÇECI et al., 2005; WANG; ZHOU; CHEN, 2008).

Sendo assim, diante dos efeitos indesejáveis causados pelas altas temperaturas, aliada a tendência dos consumidores que anseiam cada vez mais por produtos de alta qualidade sensorial e nutricional, a indústria vem buscando métodos de conservação alternativos de modo a minimizar as depreciações causadas pelo tratamento térmico tradicional. Os novos métodos de conservação, conhecidos como métodos emergentes visam um menor tempo de processamento, maior rendimento e melhor retenção de parâmetros nutricionais e de qualidade (CULLEN, 2012; SUN, 2014).

Portanto, considerando a resistência da LOX em ser inativada e sua importância na qualidade dos alimentos, este estudo teve como objetivo prospectar na literatura quais métodos convencionais e emergentes têm sido empregados na inativação da LOX. Para isso, foi realizada uma pesquisa na literatura e posterior seleção de trabalhos dos últimos 20 anos, da área de tecnologia de alimentos e de revistas com alto fator de impacto. Esta

revisão bibliográfica teve como enfoque a elucidação das técnicas emergentes que buscaram a inativação da lipoxigenase, assim como a apresentação dos princípios, vantagens e limitações destas tecnologias.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Realizar uma revisão bibliográfica sobre os métodos de inativação da enzima lipoxigenases em alimentos.

2.2 Objetivos Específicos

I) Abordar sobre os principais métodos convencionais e não convencionais para inativação das enzimas lipoxigenases em alimentos;

II) Apresentar informações sobre a aplicação de técnicas emergentes: termossonicação, alta pressão, luz pulsada, irradiação na inativação das lipoxigenases em alimentos;

III) Levantar as vantagens e desvantagens quanto ao uso das técnicas convencionais e emergentes para a inativação da lipoxigenase;

IV) Apresentar exemplos de trabalhos que aplicaram as tecnologias emergentes para a inativação da lipoxigenase em alimentos.

3 METODOLOGIA

Este trabalho é uma revisão de literatura efetuada no período de dezembro de 2020 a outubro de 2021. O mesmo foi desenvolvido com apoio de pesquisas feitas em base de dados, livros, dissertações, artigos científicos, dentre outros materiais considerados importantes.

A busca em bancos de dados foi realizada utilizando as palavras-chave (em português e inglês): enzimas, lipoxigenase em alimentos, inativação da lipoxigenase, tecnologias emergentes para inativação da lipoxigenase em alimentos. As etapas seguidas para realização do estudo estão apresentadas na Figura 1.

Figura 1 – Etapas seguidas para realização da revisão de literatura.



4 REFERENCIAL TEÓRICO

4.1 Enzimas

A catálise biológica foi reconhecida no final de 1700 com os estudos da digestão da carne por secreções do estômago. Por volta de 1850, Louis Pasteur concluiu que a fermentação de açúcar em álcool por leveduras é catalisada por “fermentos”. Em 1897, Eduard Buchner descreveu que os extratos de levedura podem fermentar açúcar em álcool. Os experimentos de Buchener marcaram a história da ciência bioquímica e posteriormente Frederick W. Kuhne deu o nome de enzimas (do grego, *enzymos*, “levedado”) para as moléculas detectadas por Buchner (NELSON; COX, 2019).

Além da importância nos sistemas biológicos, as enzimas possuem papéis importantes no processamento de alimentos, na indústria química, no tratamento de efluentes e resíduos industriais e na síntese de fármacos. Essas proteínas também possuem propriedades medicamentosas, como as enzimas digestivas, por exemplo, que também são usadas para o diagnóstico de muitas doenças (BELLÉ; SANDRI, 2014).

A manutenção da vida celular depende da contínua ocorrência de um conjunto de reações químicas, que devem atender duas exigências fundamentais: (1) ocorrer em velocidades adequadas à fisiologia celular e (2) precisam ser altamente específicas, de modo a gerar produtos definidos (MARZZOCO; TORRES, 2017).

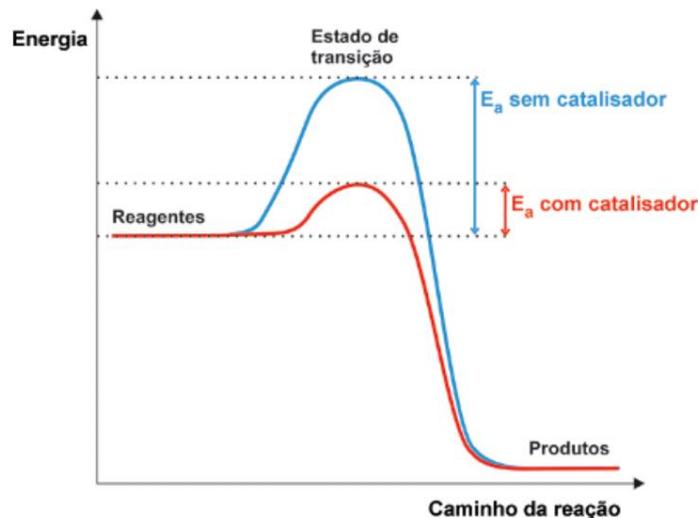
As enzimas são proteínas catalisadoras de reações químicas especializadas. São encontradas em todos os organismos, além de serem essenciais para o desenvolvimento e manutenção dos sistemas biológicos. Como catalisadores, são responsáveis pelo aumento da velocidade da maior parte das reações e se mantêm inalteradas durante o processo catalítico. No entanto, algumas moléculas de ácido ribonucleico (RNA) também podem apresentar função catalítica, não sendo uma função exclusiva das enzimas (BELLÉ; SANDRI, 2014)

Segundo Bellé e Sandri (2014), em algumas reações é necessária a presença de catalisadores, que são substâncias que aceleram a velocidade das mesmas pela diminuição da energia de ativação (E_a). Durante a reação, o catalisador pode alterar sua conformação, mas ao final sua estrutura permanece inalterada, não sendo consumido (BELLÉ; SANDRI, 2014).

Existem fatores que interferem na velocidade de reação, sendo importante analisar como ocorre a transição entre reagente e produto. O diagrama da Figura 2

mostra a variação de energia livre do sistema em função de um parâmetro genérico da reação que mede sua progressão. Na reação espontânea, a energia dos produtos é menor do que a dos reagentes. Para transformar em produto, o reagente deve passar por um estado intermediário de maior energia, chamado estado de transição (energia necessária para que as moléculas atinjam o estado reativo).

Figura 2 – Diagrama mostrando a variação de energia livre em função do caminho da reação com catalisador e sem catalisador



Fonte: MARZZOCO, TORRES (2017)

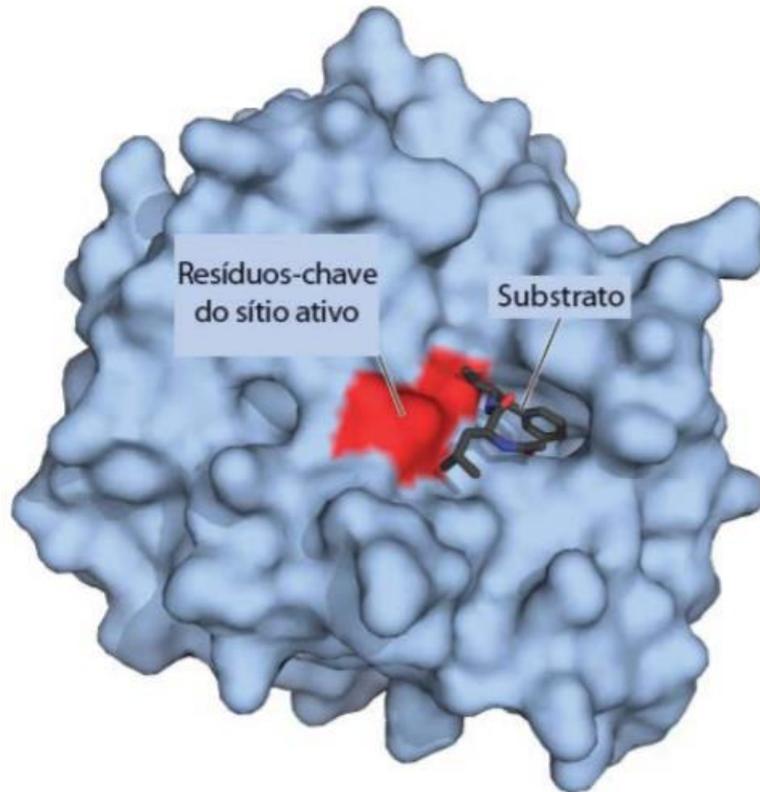
As enzimas fornecem o ímpeto necessário para que as reações químicas ocorram, formando o complexo enzima-substrato e reduzindo a energia necessária para um substrato ser convertido em um produto (KALODIMOS, 2017).

A eficiência da catálise enzimática deriva da ligação do substrato à enzima. Geralmente há grande diferença de tamanho entre as moléculas de enzimas e as de seus substratos. As enzimas são macromoléculas proteicas e são formadas por mais de uma centena de aminoácidos, enquanto suas massas molares variam de 10.000 g/mol a alguns milhões, a massa molar (g/mol) dos substratos é de grandeza inferior (MARZZOCO; TORRES, 2017).

Para a catálise total da molécula enzimática, a ligação com o substrato dá-se apenas em uma região pequena e bem definida da enzima, chamada sítio ativo. A estrutura do sítio ativo é responsável pela grande especificidade das enzimas, pois permite o “reconhecimento” da enzima ao seu substrato (Figura 3). Para que uma molécula seja reconhecida como substrato, esta deve conter forma complementar à do

sítio ativo da enzima e grupos químicos capazes de estabelecer ligações específicas com os aminoácidos do sítio ativo (MARZZOCO; TORRES, 2017).

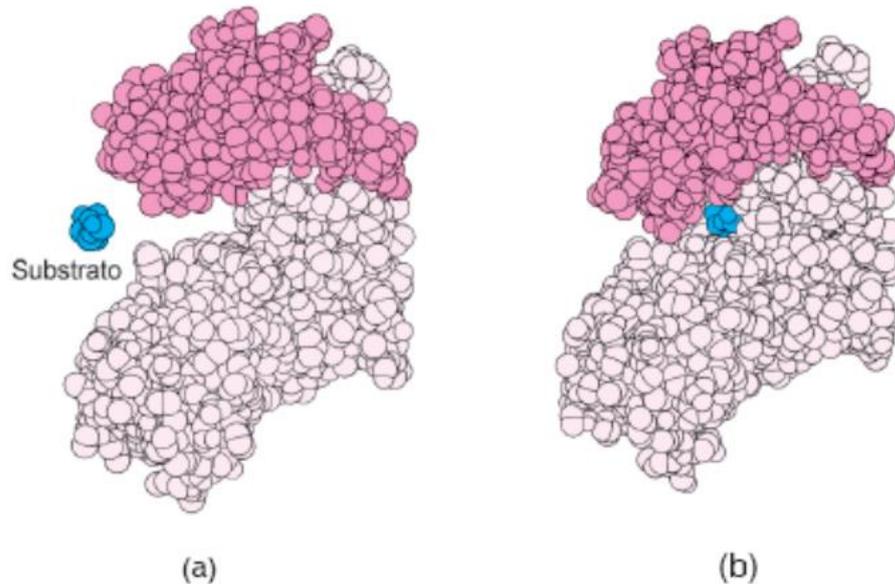
Figura 3– Ligação de um substrato no sítio ativo de uma enzima.



Fonte: E-disciplinas (2021)

A estrutura e a forma do sítio ativo se dão em decorrência da estrutura tridimensional da enzima e podem ser afetadas por agentes capazes de provocar mudanças na conformação da proteína (Figura 4). A atividade catalítica da enzima depende da integridade da conformação nativa. Se a enzima for desnaturada ou dissociada, geralmente a atividade catalítica é perdida. Se uma enzima for degradada até as subunidades de aminoácidos que a compõem, a atividade catalítica é perdida. Portanto, as estruturas proteicas primária, secundária, terciária e quaternária das enzimas são essenciais para a atividade catalítica (NELSON; COX, 2019).

Figura 4 – Mudança da conformação da ligação enzima-substrato. Exemplo da hexoquinase antes (a) e depois (b) de se ligar ao substrato, a glicose.



Fonte: MARZZOCO; TORRES (2017)

Segundo Marzzoco e Torres (2017), importante para atividade de inúmeras enzimas são os cofatores enzimáticos, os quais podem ser íons metálicos ou moléculas orgânicas, não proteicas, de complexidade variada, que recebem o nome de coenzimas. Os cofatores estão diretamente envolvidos nas reações de catálise e por isso são necessários no sítio ativo, já que a maioria das enzimas necessita da associação com outras moléculas ou íons para exercer seu papel catalítico (ANDREINI et al., 2009).

Íons metálicos como Zn^{+2} , Fe^{+2} , Cu^{+2} e o Co^{+2} costumam fazer parte da estrutura da enzima ou ligam-se em cadeias laterais de aminoácidos. Outros íons metálicos como Na^+ , K^+ , entre outros, associam-se fraca e reversivelmente à enzima, ao substrato ou à coenzima (MARZZOCO; TORRES, 2017).

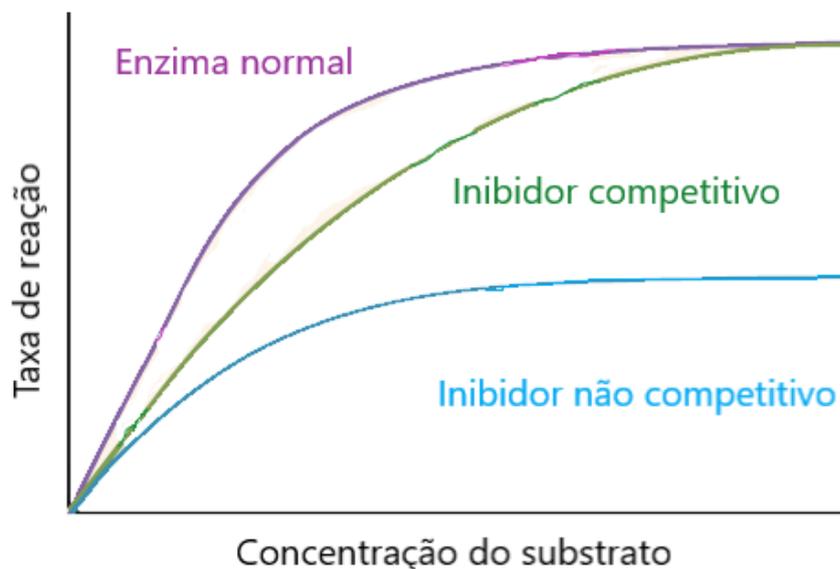
Em contrapartida, a atividade enzimática pode ser diminuída pela ação de inibidores, sendo algumas dessas substâncias constituintes presentes nas células, outras estranhas aos organismos (MARZZOCO; TORRES, 2017). Os inibidores são capazes de interferir de maneira específica, na taxa de reação de catálise enzimática, retardando ou reduzindo o processo ou a especificidade da reação. Os processos de inibição de enzimas estão divididos em dois tipos: inibidores reversíveis e inibidores irreversíveis (MARQUES; YAMANAKA, 2008).

Segundo Marzzoco e Torres (2017), os inibidores irreversíveis reagem com as enzimas levando à inativação definitiva, como os compostos organofosforados, o ácido

ascórbico, o metabissulfito de sódio e o cloreto de cálcio. Nesse processo, o inibidor se liga ao sítio ativo da enzima de maneira irreversível, geralmente por ligações covalentes, impedindo a ligação do substrato. Já os inibidores reversíveis levam à inibição enzimática e são divididos em dois grupos: os competitivos e os não competitivos (MARQUES; YAMANAKA, 2008).

Os inibidores competitivos (Ic) apresentam configuração espacial semelhante ao substrato, ligando-se ao centro ativo da enzima produzindo um complexo enzima-inibidor (E_{Ic}). Já os inibidores não competitivos (Inc) não guardam configuração espacial semelhante ao substrato da reação que inibem. Sua ligação altera a estrutura enzimática ao ponto de inviabilizar a catálise sendo seu ponto de ligação a cadeia lateral de um aminoácido (YAMANAKA; MARQUES, 2008). A Figura 5 apresenta a relação da velocidade da reação e a concentração do substrato.

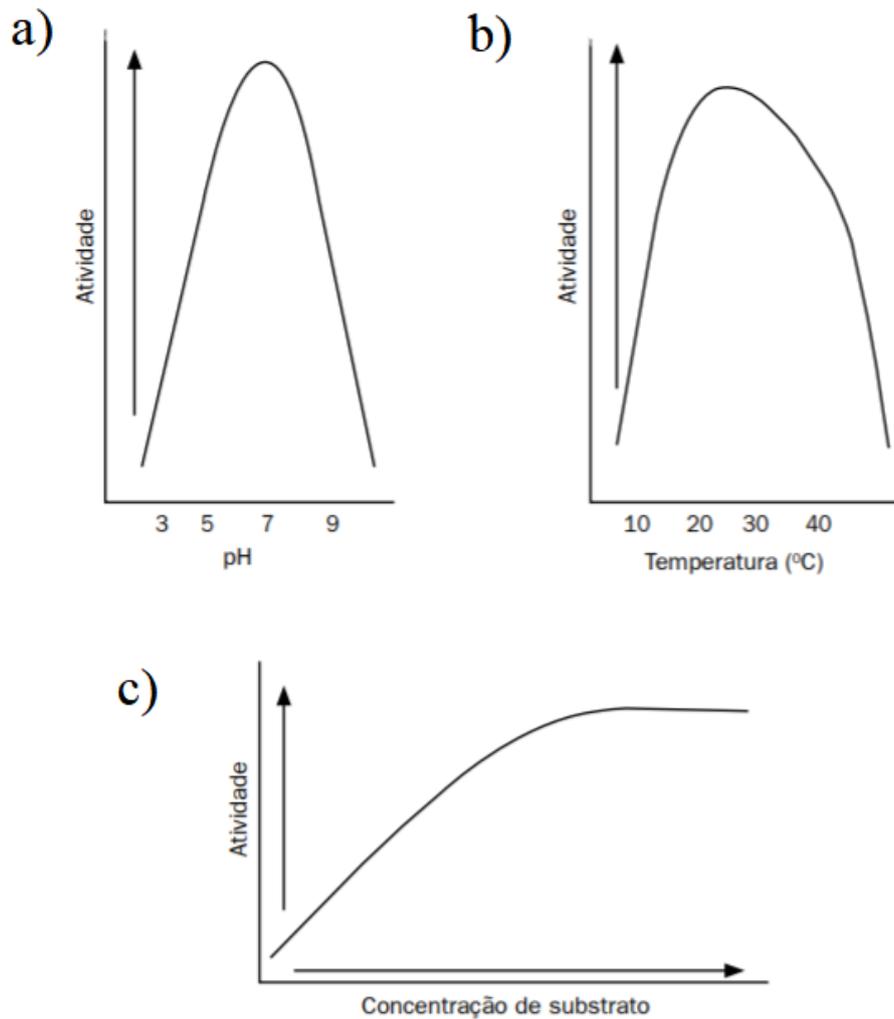
Figura 5 – Taxa de reação em função da presença ou não de inibidores



Fonte: Adaptado de Khan Academy (2021)

Marzzoco e Torres (2017) também relatam a dependência da atividade enzimática com as características do meio, sendo eles pH (Figura 6a), temperatura (Figura 6b) e concentração do substrato (Figura 6c).

Figura 6 – Efeito do pH, temperatura e concentração de substrato sobre a atividade enzimática



Fonte: Food Ingredients Brasil (2011)

Seguindo o comportamento das reações químicas, a velocidade da atividade enzimática aumenta quando se aumenta a temperatura até um valor máximo, denominado temperatura ótima, após a velocidade declina rapidamente, mesmo aumentando a temperatura, como mostra a Figura 6a. Isso ocorre por que a estrutura tridimensional das enzimas se modifica, impossibilitando-a de formar o complexo enzima-substrato. Para o pH, Figura 6b comportamento similar é observado em comparação a temperatura, ou seja, existe um valor para a atividade ótima, de tal forma que após atingido esse valor, ocorre um rápido decréscimo da velocidade da reação (UFRGS, 2021). Por fim, assim como os demais fatores, aumentar a concentração de substrato, Figura 6c também aumentará a taxa de reação até um certo ponto, e após se

mantêm constante. Assim que todas enzimas tenham se ligado, mais nenhum aumento de substrato terá efeito sobre a taxa de reação, uma vez que as enzimas disponíveis estarão saturadas e trabalhando em sua taxa máxima (KHAN ACADEMY, 2021).

Muitos estudos sobre redução da atividade enzimática estão relacionados àquelas que afetam a qualidade dos produtos. Diversas enzimas endógenas, presentes em frutas e vegetais, estão associadas ao desenvolvimento de cores e sabores indesejáveis ao consumidor. Em suco de maçã, por exemplo, a enzima polifenol oxidase (PPO) forma pigmentos marrons que deterioram a qualidade de frutas e vegetais frescos, como sucos (ILLERA et al., 2018). A enzima pectinametilesterase (PME) hidrolisa a pectina resultando em diminuição da turbidez e redução da viscosidade de suco de laranja e tomate, já a peroxidase (POD) está associada ao desenvolvimento de sabores estranhos e escurecimento dos pigmentos (O'DONNELL et al., 2010). A lipoxigenase (LOX) também tem sido associada à deterioração da qualidade dos alimentos devido ao a produção de sabores e odores estranhos, perda de pigmentos como carotenos e clorofilas e destruição de ácidos graxos essenciais (BAYSAL; DEMIRDÖVEN, 2007).

4.2 Lipoxigenase em Alimentos

As enzimas lipoxigenases estão presentes em grande variedade de tecidos e órgãos de animais, como aves, peixes e mamíferos. Nas plantas, regulam muitas funções relacionadas ao crescimento e desenvolvimento de leguminosas, grãos e tubérculos. Shi et al. (2020) extraíram LOX de semente de alfafa, fava, lentilhas, ervilha, tremoços, grão de bico, feijão mungu (feijão-da-china) e soja.

As LOXs são amplamente distribuídas na natureza e foram descobertas pela primeira vez em plantas de soja (*Glycine max* [L.] Merr.), mais tarde foram encontradas em *Chlorella* e fungos (ALHENDI et al., 2017). As LOXs vegetais são proteínas monoméricas de cerca de 95–100 kDa que consistem em dois domínios: o domínio amino-terminal de cerca de 25-30 kDa e o domínio carboxi-terminal de cerca de 55-65 kDa, sendo que este último consiste principalmente em alfa hélices e abriga o sítio catalítico da enzima. As lipoxigenases (LOXs) constituem uma família de enzimas contendo ferro não heme (cofator) que é octaedricamente coordenado por 5 cadeias de cinco aminoácidos, mais um ligante de água ou hidroxila. No caso de LOXs de plantas, os resíduos são sempre três histidinas, uma asparagina e o grupo carboxi da isoleucina (ANDREOU; FEUSSNER, 2009)

Esta enzima catalisa a oxidação de ácidos graxos poli-insaturados (PUFA) para formar hidroperóxidos de ácidos graxos. O ácido linoleico (ácido cis, cis, -9-12-octadecadienoico) e linolênico (ácido cis, cis, cis-9,12,15-octadecatrienoico) são os principais ácidos graxos poli-insaturados em tecidos vegetais, e a inserção do oxigênio ocorre na posição 9 ou 12, gerando os correspondentes 9- ou 13-hidroperóxidos. Os hidroperóxidos de ácidos graxos gerados pela atividade de LOX são potencialmente deletérios para a função da membrana, causando aumento e rigidez indesejáveis com o seu acúmulo.

Devido a produção de sabor e estranho amargor em muitos vegetais, a inativação da LOX é considerada um ponto crítico de controle durante o processamento de alimentos, para mantê-los no nível de qualidade aceitável ao consumidor (ALHENDI et al., 2017). As lipoxigenases estão relacionadas a implicações negativas para a cor e o sabor dos alimentos (BAYSAL; DEMIRDÖVEN, 2007).

4.2.1 Alterações Sensoriais Promovidas pela Lipoxigenase em Alimentos

As enzimas podem estar envolvidas na deterioração de produtos alimentícios, causando alterações indesejáveis de cor, sabor ou nutrientes (FELLOWS, 2000). Essas enzimas incluem peroxidase (POD), pectimetilsterase (PME), polifenoloxidasas (PPO) e lipoxigenase (LOX).

A LOX catalisa a oxidação de PUFA (ácidos graxos poliinsaturados) levando à deterioração das leguminosas e perda de qualidade (LUDIKHUYZE et al., 1998). Os vegetais geralmente contêm uma boa quantidade de ácido graxo essencial, que pode ser degradado pela reação catalisada por LOX. A deterioração do ácido graxo envolve a auto oxidação primária por uma reação em cadeia de radical livre, foto oxidação e oxidação enzimática catalisada por LOX. O hidroperóxido é formado e posteriormente decomposto em compostos de carbonila, hidrocarbonetos, aldeído, cetonas e outros produtos químicos, que resultam em ranço e compostos voláteis (SHI et al., 2020).

As alterações oxidativas devido à LOX podem levar à perda da integridade da membrana celular, acelerando o amadurecimento e lise celular. A peroxidação lipídica e os hidroperóxidos também resultam na perda de pigmentos pela degradação de carotenoides e clorofilas e conferem uma cor amarela aos produtos. Ao mesmo tempo, o potencial antioxidante do produto alimentar é reduzido (SHI et al., 2020). Além disso, os radicais livres produzidos durante a reação podem atacar outras substâncias

(particularmente vitaminas, proteínas e aminoácidos), reduzindo assim seus valores nutritivos.

A LOX da semente de soja é a mais bem caracterizada entre as LOX de plantas, embora os papéis fisiológicos dessas enzimas não sejam completamente conhecidos. Baysal e Demirdöven (2007) isolaram quatro isoenzimas dos grãos de soja, que geralmente variam no pH ideal, bem como na especificidade do produto e do substrato. A isoenzima tipo 1 tem um pH ótimo de 9,0, atua apenas sobre ácidos graxos poliinsaturados livres e forma 9- e 13-hidroperóxidos na proporção de 1:9 em temperatura ambiente. A isoenzima de soja tipo 2 tem um pH ótimo de 6,8, atua sobre os triglicerídeos e também sobre os ácidos graxos poliinsaturados livres e forma 9- e 13-hidroperóxidos na proporção de cerca de 1:1 em temperatura ambiente. A isoenzima da soja é semelhante à isoenzima 2, mas sua atividade é inibida por íons cálcio, enquanto a LOX-2 é estimulada pelo metal. Já a LOX-4 é muito semelhante à isoenzima 3, mas pode ser separada por cromatografia em gel ou eletroforese.

Estas isoformas da enzima são ativas sob diferentes condições e estados do substrato e produzem hidroperóxidos e radicais livres a partir da oxidação de lipídios. Essa reação leva a um odor característico de feijão, causado por uma série de aldeídos voláteis e álcoois de seis carbonos, como hexanal, E-2 hexenal, hexanol ou Z-3-hexenol (RIENER et al., 2008).

São esses compostos que são responsáveis pelo sabor estranho, desagradável ao paladar humano, em leguminosas. Por exemplo, a produção de n-hexanol, n-pentanol e n-heptanol na soja resulta em sabor semelhante ao feno. O hexanal limita a aplicação do feijão mungu na produção de alimentos, devido à produção de notas verdes e compostos aromáticos. O hexanal e 2-pentil furano catalisado pela LOX produz intensos aromas verdes em feijão alados.

As reações catalisadas pela LOX podem ser minimizadas pelo uso de inibidores. Os inibidores LOX podem ter efeito quelante e ação redutora. Por exemplo, a atividade da LOX é inibida quando Fe^{3+} é reduzido a Fe^{2+} , então o seleneto e o ácido nordihidroguaiarético podem inibir a LOX ao transformar Fe^{3+} em Fe^{2+} . Os inibidores também podem competir por radicais lipídicos livres para encerrar a reação em cadeia, de forma que a hidrogenação de grupos hidroxila fenólicos com radicais livres produz radicais livres de semiquinona estáveis, completando assim o efeito antioxidante ao encerrar a reação em cadeia (SHI et al., 2020). Szymanowska et al. (2009) inibiu a atividade da LOX da ervilha através do uso de composto fenólico.

No entanto, a indústria de alimentos tem utilizado técnicas de processamento que não só diminuem a velocidade de uma reação enzimática, como também atuam em seu sítio ativo, de forma a alterar sua estrutura tridimensional, inativando-a completamente. A inativação enzimática é geralmente explicada como um processo químico envolvendo vários fenômenos como agregação, dissociação em subunidades ou desnaturação (alterações conformacionais), que ocorrem simultaneamente. Já a inativação da LOX pode envolver uma série de reações reversíveis (decomposição e desnaturação), bem como irreversíveis (decomposição, agregação e coagulação) (JANVE et al., 2014).

Portanto, considerando os compostos gerados pela LOX, a inativação completa desta enzima torna-se necessária para a preservação da qualidade e vida útil dos alimentos.

4.3 Tratamentos Empregados na Inativação da Lipoxigenase

O processamento de alimentos envolve a transformação de matérias-primas em produtos prontos para o consumo. A indústria de alimentos desenvolve e emprega tecnologias para manter ou aprimorar as qualidades sensoriais e nutricionais das matrizes alimentares, bem como reduzir as mudanças indesejáveis devido ao processamento, além de aumentar a vida útil dos alimentos. Uma variedade de tecnologias para a conservação de alimentos que têm sido amplamente utilizadas na indústria, incluindo métodos de preservação físicos (por exemplo, aquecimento, congelamento, resfriamento, desidratação e embalagem) e químicos (por exemplo, redução do pH ou uso de conservantes). Tecnologias alternativas de processamento de alimentos também estão sendo exploradas e implementadas para fornecer alimentos nutritivos, seguros e com sabor fresco, sem o uso de calor ou conservantes químicos (SUN, 2014). A seguir, serão abordadas as técnicas de processamento de alimentos mais empregadas na inativação da LOX.

4.3.1 Tratamento Térmico

A conservação dos alimentos pelo uso do calor é o método de inativação da enzimática mais utilizado na indústria de alimentos. A LOX tem sido utilizada como indicadora de eficiência do processamento empregado, principalmente em sucos de

frutas e vegetais (AGUILÓ-AGUAYO et al., 2008; BAHÇECI et al., 2005; DE BARROS et al., 2018; MIN; MIN; ZHANG, 2003), não só por ser mais difícil de inativar do que PME e PPO, mas também pela importância que exerce na estabilidade de armazenamento dos vegetais (SUN, 2014). A destruição térmica das enzimas pode se dar por meio do branqueamento, pasteurização ou esterilização.

O branqueamento é o método mais brando, o qual utiliza temperaturas entre 70 °C e 100 °C e tempos que variam de 1 a 5 minutos, com posterior resfriamento para evitar que o produto permaneça por mais tempo na temperatura elevada, causando um cozimento excessivo do produto. Os métodos comerciais mais comuns são submeter o alimento ao vapor saturado ou imergir o produto em água quente. Geralmente, é aplicado em frutas e hortaliças, antes do congelamento ou desidratação (VASCONCELOS, 2010).

A pasteurização também trabalha com temperaturas inferiores a 100 °C, porém o tempo é determinado de acordo com o microrganismo ou enzima que se quer inativar. A pasteurização se divide em: LTLT (*low temperature and long time* - baixa temperatura e longo tempo) e HTST (*high temperature and short time* ou alta temperatura e curto tempo). Sendo a primeira mais utilizada em sistemas artesanais, onde o volume de produção não justifica a aquisição de um trocador de calor mais eficiente. Já o método HTST é mais empregado em indústrias de médio e grande porte.

A esterilização visa destruir todos os microrganismos patogênicos e enzimas deterioradoras que possam crescer sob condições normais de estocagem, utilizando temperaturas superiores a 100 °C. Também conhecido como esterilização comercial, neste método ocorre a destruição tanto das formas vegetativas quanto esporuladas de microrganismos. A esterilização pelo método UHT (*Ultra High Temperature*), em que se utilizam temperaturas de processamento mais altas por tempos mais curtos (135 °C a 150 °C/2 s a 5 s) nos alimentos antes de embalar, e nos alimentos já embalados utilizam-se temperaturas que variam de 115 °C a 125 °C durante um período de aproximadamente 15 min (TEIXEIRA, RAQUEL; ZAMPA, 2014).

A inativação de enzimas e microrganismos é alcançada por tratamentos térmicos para melhorar a vida útil dos alimentos (KWOK; LIANG; NIRAJAN, 2002). Segundo Baysal (2007), as lipoxigenases podem ser inativadas termicamente acima de 60 °C, resultando em uma melhora na vida útil dos alimentos. Shi et al. (2020) utilizaram temperatura acima de 80 °C por 10 min para inativar a LOX do extrato hidrossolúvel de soja, enquanto Yuan et al. (2008) ao estudarem o mesmo produto, observaram a

inativação total da LOX a 80 °C por 2 min. Em seu estudo, Bahçeci et al. (2005) atingiram a inativação de mais de 90% da LOX no branqueamento da vagem a 70 °C por 2 min. Tal diferença de condições de inativação está relacionada ao tipo de alimento e à estabilidade térmica das isoenzimas da LOX.

Embora o tratamento térmico inative efetivamente a LOX, também desnatura as proteínas, resultando na degradação de aminoácidos, perda de sua funcionalidade e em outras reações deteriorantes (SHI et al., 2020). A diminuição nos aspectos de qualidade dos alimentos inclui também a perda de textura e qualidade nutricional, formação de um sabor cozido, mudança na cor e perda de sólidos solúveis (WANG, ; ZHOU; CHEN, 2008). Além disso, certos sabores, cores, vitaminas e nutrientes também podem ser afetados pelo tratamento térmico (Li et al., 2008)). Portanto, o emprego de tecnologias emergentes na inativação da LOX torna-se interessante para reduzir a perda sensorial e nutricional dos vegetais.

4.3.2 Técnicas Emergentes

No geral, os novos métodos de conservação de alimentos, conhecidos como métodos emergentes, são classificados em térmicos e não térmicos. As tecnologias emergentes térmicas utilizam fundamentalmente o calor, entretanto diferenciam-se dos métodos tradicionais porque o calor é gerado no interior do produto, de maneira mais efetiva e eficiente. Isso reduz o tempo em que o alimento fica exposto ao calor e, conseqüentemente reduz as degradações causadas pelo tratamento térmico convencional. Dentre as tecnologias térmicas emergentes pode-se citar o micro-ondas, radiofrequência, infravermelho e aquecimento ôhmico (CULLEN, 2012; SUN, 2014). Já as tecnologias emergentes não térmicas, tais como alta pressão hidrostática, ultrassom e radiação ionizante, utilizam outro princípio que não o calor para promover a inativação enzimática e microbiológica, de forma que, essas técnicas levam a um menor tempo de processamento, maior rendimento e melhor retenção de parâmetros nutricionais e de qualidade. Além de preservar as características do alimento, as novas tendências em tecnologia costumam buscar seguridade para o meio ambiente, revelando preocupação com o equilíbrio entre a produção e o consumo de alimentos (CULLEN, 2012; SUN, 2014).

Na Tabela 1, são apresentadas as principais técnicas térmicas e não térmicas empregadas na inativação da LOX em alimentos.

Tabela 1. Inativação da lipoxigenase em diferentes matrizes alimentares (continua...)

Método	Alimento	Especificações do equipamento	Condições do processo	Inativação enzimática (%)	Referência
Irradiação gama	Grão de Soja Genótipo Kalitur, NRC37 e Hara	Célula GC 5000 Fonte: ⁶⁰ Co	0,5; 2,0 e 5,0 kGy 5,4 kGy / h	5kGy: Lox I: 74 % (NRC37) e 73 % (Hara) Lox II + III: 69 % (Kalitur), 53 % (NRC37) e 52 % (Hara)	Odueke et al. (2019)
	Grão de soja Genótipo: BRS-258 e DEmbrapa 48 (EMB.48)	Gamacell 220 Fonte: ⁶⁰ Co	2.5, 5 e 10 kGy	10 kGy: 79,68% para o BRS-258; 81,91% para o EMB.48	Barros et al. (2014)
	Suco de melão	Fonte: ⁶⁰ Co 0,5 kGy / h	1-5kGy	2kGy: 82,39% 5kGy: 84,83%	Wang et al. (2006)
	Grão de soja Genótipo: EC472143 e Pusa 9814	Irradiador Gama Gamacell GC 5000 Fonte: ⁶⁰ Co	0.5, 1.0, 2.0 e 5.0 kGy	5.0kGy: LOX 1: 61% (Pusa 9814) e 66% (EC472143) LOX 2 + 3: 76% (Pusa 9814) e 68% (EC472143).	Kumari et al. (2020)

PL - Luz pulsada	Leite de Soja	Xenon LH- 840 LMPHSG PL 3 pulsos/s, largura de pulso: 360 μ s; 54%, 26% e 20% de energia nas regiões UV, VIS e IR.	1,26 J/cm ² ; 5, 7 e 9 cm de distância; 0, 30, 60, 80, 90, 120 e 150 s, Com resfriamento (<25 °C) e sem resfriamento	Distância de 7 cm; 90 s, 340,2 J/cm ² ; 71,7°C: 100,0 %	Alhendi et al. (2017)
RF - Radiofrequência	Grão de soja comercial	27,12 MHz Eletrodo de 45mm 1,8 kW	90-240s	210 s: 94,3%	Jiang et al. (2018)
	Bebida à base de leite de soja comercial + Suco de frutas (kiwi, laranja e abacaxi)	Fluxo contínuo Volume 0,012 cm ³ , distância de 0,29 cm, vazão 60 mL/min	35 kV / cm, pulsos bipolares, 4 μ s, 200 Hz, 800 ou 1400 μ s	800 μ s: 34% 1400 μ s: 39%	Morales-de la Peña et al. (2010)
HIPEF – Campo Elétrico Pulsado	Leite de soja fresco	PEF OSU-4L PEF	20-42 kV / cm, 100-600Hz, 1-5 μ s,	42 kV / cm, 400 Hz, 2 μ s (modo bipolar): 88%:	Li et al. (2008)
	Leite de soja fresco	PEF + aquecimento em banho-maria	20, 30 e 40 kV/cm; 25, 50 e 100 μ s; 23, 35 e 50 °C	50 °C + PEF (100 μ s, 40 kV/cm): 84,5%	Riener et al. (2008)

	Suco de tomate	OSU-4A 15 kV	0, 10, 15, 20, 30, 35 kV/cm, 20, 30, 50, 60, 70 μ s, 10,20,30,40 e 50 °C	35 kV/cm, 50 °C, 74,8 μ s: 90 %	Min; Min; Zhang (2003)
	Leite de soja fresco	PEF 400Hz Largura de pulso: 2 μ s	0, 345, 517, 690, 862 e 1.036 μ s	42 kV/cm, 1.036 μ s: 88%	Li et al. (2013)
Alta pressão hidrostática (HPPH)	Leite de soja fresco	HPPH FPG11300 120 L/h	55, 65 e 75 °C 200 e 300 MPa	300 Mpa, 75 °C: comercialmente estéril	Poliseli-Scopel et al. (2012)
	Grão de soja	HPUI-10000 83 mL/min	650Mpa; -10 a 70 °C	650 Mpa, 50 °C: total	Indrawati et al. (2000)
Termossonicação (TS)	Suco de cenoura	TS 750 W, 20 kHz, 48 $W\text{ cm}^{-2}$ amplitude 70 % Pulso de 5s on/off	20, 40 e 60 °C; 5 e 10 min	60 °C, 10 min: >90%	Jabbar et al. (2015)

4.3.2.1 Tecnologias Emergentes Não Térmicas

O processamento de alta pressão hidrostática (HPPH) é um método de processamento em que os alimentos são submetidos a pressões elevadas (50-1000 MPa), com ou sem a adição de calor, para atingir a inativação microbiana/enzimática ou para alterar os atributos alimentares e alcançar as qualidades desejadas pelo consumidor (CULLEN, 2012). No tratamento por HPPH, a pressão é transmitida de maneira uniforme e instantânea por toda a amostra, o que permite a obtenção de produtos sem partes excessivamente tratadas. Antes dos produtos alimentícios serem carregados em um equipamento de alta pressão, eles devem ser acondicionados em um recipiente flexível, que considere uma redução de 10 a 20% do volume durante o processamento (SUN, 2014). Segundo Salazar et al. (2020), a HPPH retém a qualidade dos alimentos melhor do que o processamento térmico. O tratamento combinado de pressão e temperatura também podem inativar a LOX irreversivelmente, e a inativação da enzima segue a cinética de primeira ordem (INDRAWATI et al., 2000). Polisel-Scopel et al. (2012) ao compararem o extrato hidrossolúvel de soja pasteurizado a (95 °C / 30 s) com amostras submetidas ao HPPH, verificou que a maioria das amostras submetidas a HPPH produziu extrato de soja de qualidade melhor do que pasteurizado, com diminuição significativa no tamanho das partículas, alta estabilidade física, além de baixos de índice de hidroperóxido. Estes autores alcançaram um produto comercialmente estéril por alcançar inativação da LOX maior que 90%.

Já a luz pulsada (PL) envolve o uso de lâmpadas de gás inerte que convertem pulsos elétricos de curta duração e alta potência, dentro das regiões de frequência de luz ultravioleta (UV), visível (VL) e infravermelha (IR). A luz ultravioleta pode causar destruição fotoquímica de aminoácidos fotossensíveis (SHI et al., 2020). Como o espectro de absorção da luz para proteínas é 250–300 nm e o espectro de absorção para ligação peptídica é 190–220 nm, a região UV da luz pulsada é considerada a mais eficaz na desnaturação de proteínas. O aumento da temperatura induzido pelo tratamento com PL é uma das principais preocupações tecnológicas, pois contribui para a inativação microbiana, mas também pode resultar em danos térmicos significativos nos alimentos tratados. De acordo com Janve et al. (2014) o tempo de iluminação PL e a distância da fonte de luz afetam significativamente a degradação da proteína LOX. Segundo Alhendi et al. (2017), a energia necessária para inativar totalmente o LOX aumenta com o aumento da distância entre a lâmpada e as amostras de extrato hidrossolúvel de soja e,

consequentemente, aumenta o custo do tratamento. Neste estudo, a PL também deixou o extrato de soja mais escuro do que a amostra controle (45 °C/ 80 s).

O campo elétrico pulsado (PEF) consiste em pulsos de campo elétrico de curta duração e alta intensidade que afetam a interação eletrostática entre ligações peptídicas, resultando na alteração da estrutura da proteína (SHI et al., 2020). O processamento do PFE envolve a aplicação de pulsos curtos (μs) de alta tensão (kV/cm) a alimentos colocados entre dois eletrodos (CULLEN, 2012). No entanto, o tratamento com PEF só pode ser aplicado a produtos alimentícios líquidos, que podem sustentar alto campo elétrico e baixa condutividade elétrica (BUTZ; TAUSCHER, 2002; RAJKOVIC; SMIGIC; DEVLIEGHIERE, 2010). Com base nos resultados de Li et al. (2008), o tempo de tratamento do PEF, a força do tratamento, a frequência do pulso e a largura do pulso afetam significativamente a desnaturação da LOX. Morales-De La Peña et al. (2010) compararam a pasteurização térmica (90 ° C/ 60 s) de um suco de fruta à base extrato hidrossolúvel de soja (FJ-SM) e observou que o conteúdo de vitamina C e a capacidade antioxidante foram maiores nas bebidas FJ-SM processadas por PEF do que nas tratadas termicamente. Neste estudo, a inativação enzimática alcançada com PEF foi 39% e o conteúdo fenólico foi maior nestas bebidas tratadas a 1400 μs .

O uso de irradiação gama para descontaminação de alimentos é uma tecnologia promissora que pode ser aplicada ao produto final. Essa tecnologia também tem a vantagem de ser aplicável a produtos frescos, congelados ou cozidos. É uma tecnologia física, segura, ambientalmente limpa e eficiente. Esta tecnologia pode melhorar a útil dos alimentos (1-10 kGy) e pode ser usada para esterilização de alimentos (10-50 kGy), para reduzir o nível de adição de conservantes nos alimentos e garantir a inocuidade dos alimentos (BARROS et al., 2014). Em 2001, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) regulamentou a irradiação gama em alimentos por meio da RDC 21 (BRASIL, 2001) e sua segurança é aprovada pela Organização Mundial da Saúde (OMS), Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) e Administração de Alimentos e Medicamentos dos Estados Unidos (FDA), como também é recomendada (até 10kGy) pela Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO) (ALIGHOURCHI et al., 2014; ODUEKE et al., 2018). No entanto, Wang et al. (2006) observou que a irradiação não é um método adequado para a inativação das LOX porque o aroma, atributo sensorial do suco, foi negativamente afetado a 2 kGy, apesar da atividade enzimática da enzima ter sido reduzida em 82,39%.

4.3.2.2 Tecnologias Emergentes Térmicas

A termossonicação consiste na combinação do ultrassom com o calor, no qual o produto é submetido a condições de temperatura moderada (50 °C -70 °C) sendo concomitantemente submetido a ondas ultrassônicas. Quando combinado com o calor, o ultrassom apresenta um efeito sinérgico, tendo a capacidade de acelerar as taxas de inativação enzimática e microbiológica, reduzindo assim o tempo e intensidade do tratamento térmico necessário, conseqüentemente minimizando as degradações nutricionais e alterações sensoriais (CHEMAT; ZILL-E-HUMA; KHAN, 2011). A termossonicação tem se mostrado eficiente na inativação enzimática e diversos estudos revelam suas aplicações em PDO, PME e PPO. Até o presente momento, só foi encontrado um estudo que relata a inativação da LOX por termossonicação (Tabela 1). Segundo Jabbar et al. (2015), a termossonicação do suco de cenoura a 60 °C atingiu o mesmo nível de inativação de enzimas que o tratamento térmico (80 °C/1min), inativando mais de 90 % da LOX. Contudo a termossonicação, melhorou os pigmentos e aumentou a retenção de ácido ascórbico, fenol total, flavonoides totais e taninos. Apresentando benefícios adicionais do tratamento em comparação ao tratamento térmico.

A radiofrequência (RF) também é um método eficaz de inativação da LOX, que utiliza energia eletromagnética com frequência entre 300 kHz e 300 MHz. O tratamento por RF tem um tempo de aquecimento mais curto e uma taxa de transmissão térmica mais rápida, pois o alimento é passado entre dois eletrodos e uma voltagem de radiofrequência é aplicada neles, mudando a orientação dos dipolos de água e levando a um aquecimento muito rápido. No entanto, a espessura do alimento é restringida pela distância entre as placas do capacitor, o que é uma limitação importante do método. A quantidade de calor gerada no produto é determinada pela frequência, o quadrado da tensão aplicada, as dimensões do produto e o fator de perda dielétrica do material (SUN, 2014). Segundo Jiang et al. (2018), além de atingir a redução de mais de 94% da LOX, a RF melhorou significativamente o sabor do extrato hidrossolúvel de soja e manteve as propriedades funcionais dos isolados de proteína de soja devido ao tempo de aquecimento mais curto (210s). Além disso, estes autores identificaram que a RF aquece a amostra interna e externamente simultaneamente, aumentando a taxa de transmissão de calor.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Observado o efeito deteriorador da enzima lipoxigenase em diversas matrizes alimentares, este artigo abordou a necessidade de inativação desta enzima para melhorar a vida útil e as características sensoriais e nutricionais dos alimentos. As técnicas emergentes apresentadas foram comparadas ao tratamento térmico convencional, técnica amplamente empregada atualmente. A partir desta revisão bibliográfica conclui-se que as técnicas emergentes não térmicas têm sido amplamente estudadas na inativação da LOX. Todas as técnicas apresentadas aqui atingiram uma inativação de mais de 80% da atividade enzimática da LOX e, portanto, se mostraram eficientes e promissoras. Dentre essas técnicas, ainda não foi elucidado o potencial do ultravioleta na inativação da enzima. Já as técnicas emergentes térmicas como microondas e aquecimento ôhmico também não foram investigadas na inativação da LOX, sendo que a radiofrequência se mostrou mais efetiva do que o tratamento térmico convencional. Esta revisão bibliográfica abre perspectiva para novos estudos de tratamentos emergentes e matrizes alimentícias que podem ser avaliados quanto à inativação desta enzima deterioradora.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUILÓ-AGUAYO, Ingrid et al. Influence of high-intensity pulsed electric field processing on lipoxygenase and β -glucosidase activities in strawberry juice. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 9, n. 4, p. 455–462, 2008.

ALHENDI, Abeer et al. Inactivation of Lipoxygenase in Soymilk by Pulsed Light. **International Journal of Food Engineering**, v. 13, n. 12, p. 1–12, 2017.

ALIGHOURCHI, Hamidreza et al. The effects of sonication and gamma irradiation on the inactivation of *Escherichia coli* and *Saccharomyces cerevisiae* in pomegranate juice. **Iranian Journal of Microbiology**, v. 6, n. 1, p. 51–58, 2014.

ANDREOU, Alexandra; FEUSSNER, Ivo. Lipoxygenases - Structure and reaction mechanism. **Phytochemistry**, v. 70, n. 13–14, p. 1504–1510, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2009.05.008>>.

BAHÇECI, K. Savaş et al. Study of lipoxygenase and peroxidase as indicator enzymes in green beans: Change of enzyme activity, ascorbic acid and chlorophylls during frozen storage. **Journal of Food Engineering**, v. 66, n. 2, p. 187–192, 2005.

BARROS, Érica Amanda de et al. Chemical composition and lipoxygenase activity in soybeans (*Glycine max* L. Merr.) submitted to gamma irradiation. **Radiation Physics and Chemistry**,

v. 98, p. 29–32, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.radphyschem.2013.12.040>>.

BAYSAL, Taner; DEMIRDÖVEN, Aslihan. Lipoxygenase in fruits and vegetables: A review. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 40, n. 4, p. 491–496, 2007.

BUTZ, P.; TAUSCHER, B. Emerging technologies: Chemical aspects. **Food Research International**, v. 35, n. 2–3, p. 279–284, 2002.

CHEMAT, Farid; ZILL-E-HUMA; KHAN, Muhammed Kamran. Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 18, n. 4, p. 813–835, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ultsonch.2010.11.023>>.

CULLEN, BRIJESH K. TIWARI AND VASILIS P. VALDRAMIDIS. **NOVEL THERMAL AND NON-THERMAL TECHNOLOGIES FOR FLUID FOODS**. [S.l: s.n.], 2012. Disponível em: <http://www.ghbook.ir/index.php?name=فرهنگ_و_های_رسانه_های_نوین&option=com_dbook&task=readonline&book_id=13650&page=73&chckhash=ED9C9491B4&Itemid=218&lang=fa&tmpl=component>.

DE BARROS, Érica Amanda et al. Evaluation of gamma irradiation effect on physico-chemical properties of a mixed beverage based in soy milk and grape juice. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 316, n. 1, p. 29–36, 2018.

FELLOWS, P. Food processing technology. **Engineers Australia**, v. 72, n. 12, p. 64, 2000.

GUERRERO-BELTRÁN, JOSÉ A. et al. INACTIVATION KINETICS OF LIPOXYGENASE IN PRESSURIZED RAW SOYMILK AND SOYMILK FROM HIGH-PRESSURE TREATED SOYBEANS. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 33, n. 2, p. 143–158, abr. 2009. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1745-4549.2008.00234.x>>. Acesso em: 12 nov. 2019.

ILLERA, A. E. et al. Effect of thermosonication batch treatment on enzyme inactivation kinetics and other quality parameters of cloudy apple juice. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 47, n. February, p. 71–80, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.02.001>>.

INDRAWATI, Inneke et al. Lipoxygenase inactivation in green beans (*Phaseolus vulgaris* L.) due to high pressure treatment at subzero and elevated temperatures. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 5, p. 1850–1859, 2000.

JABBAR, Saqib et al. Exploring the potential of thermosonication in carrot juice processing. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 11, p. 7002–7013, 2015.

JANVE, Bhaskar A. et al. Nonthermal inactivation of Soy (*Glycine Max* Sp.) lipoxygenase by pulsed ultraviolet light. **Journal of Food Science**, v. 79, n. 1, 2014.

JIANG, Yiming et al. Inactivation of lipoxygenase in soybean by radio frequency treatment. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 53, n. 12, p. 2738–2747, 2018.

KUMARI, Sweta et al. Gamma irradiation, an effective strategy to control the oxidative damage of soy proteins during storage and processing. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 177, n. November 2018, p. 109134, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2020.109134>>.

KWOK, Kin Chor; LIANG, Han Hua; NIRAJAN, Keshavan. Optimizing conditions for thermal processes of soy milk. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 17, p. 4834–4838, 2002.

LI, Ying-Qiu et al. Inactivation of soybean lipoxygenase in soymilk by pulsed electric fields. **Food Chemistry**, v. 109, n. 2, p. 408–414, 15 jul. 2008. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814608000204>>. Acesso em: 31 out. 2019.

LI, Ying Qiu et al. Effects of Pulsed Electric Field Processing on Quality Characteristics and Microbial Inactivation of Soymilk. **Food and Bioprocess Technology**, v. 6, n. 8, p. 1907–1916, 2013.

LUDI KHUYZE, L. R. et al. High pressure and thermal denaturation kinetics of soybean lipoxygenase: A study based on gel electrophoresis. **LWT - Food Science and Technology**, v. 31, n. 7–8, p. 680–686, 1998.

MARQUES, P. R. B. D. O.; YAMANAKA, Hideko. Biossensores baseados no processo de inibição enzimática. **Química Nova**, Araraquara, v. 31, n. 7, p. 1791-1799, set./2008. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/cGDkmWTvJGyLbhZVjXKktVg/?lang=pt>. Acesso em: 20 set. 2021.

MIN, S.; MIN, S. K.; ZHANG, Q. H. Inactivation kinetics of tomato juice lipoxygenase by pulsed electric fields. **Journal of Food Science**, v. 68, n. 6, p. 1995–2001, 2003.

MORALES-DE LA PEÑA, M. et al. Impact of high intensity pulsed electric field on antioxidant properties and quality parameters of a fruit juice-soymilk beverage in chilled storage. **LWT - Food Science and Technology**, v. 43, n. 6, p. 872–881, jul. 2010.

O'DONNELL, C. P. et al. Effect of ultrasonic processing on food enzymes of industrial importance. **Trends in Food Science and Technology**, v. 21, n. 7, p. 358–367, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2010.04.007>>.

ODUEKE, Oluwakemi B. et al. Chemical composition and lipoxygenase activity in soybeans (*Glycine max* L. Merr.) submitted to gamma irradiation. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 53, n. 4, p. 597–603, 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.radphyschem.2010.12.014>>.

_____. Effects of gamma irradiation on the shelf-life of a dairy-like product. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 143, n. February 2017, p. 63–71, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2017.09.013>>.

POLISELI-SCOPEL, Fábio H. et al. Comparison of ultra high pressure homogenization and conventional thermal treatments on the microbiological, physical and chemical quality of soymilk. **LWT - Food Science and Technology**, v. 46, n. 1, p. 42–48, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2011.11.004>>.

RAJKOVIC, A.; SMIGIC, Nada; DEVLIEGHERE, Frank. Contemporary strategies in combating microbial contamination in food chain. **International Journal of Food Microbiology**, v. 141, n. SUPPL., p. S29–S42, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.12.019>>.

- RIENER, Joerg et al. Combined effect of temperature and pulsed electric fields on soya milk lipoxigenase inactivation. **European Food Research and Technology**, v. 227, n. 5, p. 1461–1465, set. 2008.
- SHI, Yuan et al. Legume lipoxigenase: Strategies for application in food industry. **Legume Science**, n. April, p. 1–15, 2020.
- SUN, Da Wen. **Emerg. Technol. Food Process**. [S.l: s.n.], 2014.
- TEIXEIRA, RAQUEL; ZAMPA, Fátima. Extração e pasteurização. **UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ**, 2014.
- V, ANVISA (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA), Brasil. REGULAMENTO TÉCNICO PARA IRRADIAÇÃO DE ALIMENTO. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF**, p. 3–5, 2001.
- VASCONCELOS, M. A. S. **Conserv. Aliment**. [S.l: s.n.], 2010. Disponível em: <http://redeetec.mec.gov.br/images/stories/pdf/eixo_prod_alim/tec_alim/181012_con_alim.pdf>.
- WANG, Ren; ZHOU, Xing; CHEN, Zhengxing. High pressure inactivation of lipoxigenase in soy milk and crude soybean extract. **Food Chemistry**, v. 106, n. 2, p. 603–611, 15 jan. 2008.
- WANG, Zhengfu et al. Influence of gamma irradiation on enzyme, microorganism, and flavor of cantaloupe (*Cucumis melo* L.) juice. **Journal of Food Science**, v. 71, n. 6, 2006.
- YUAN, Shaohong et al. Elimination of trypsin inhibitor activity and beany flavor in soy milk by consecutive blanching and ultrahigh-temperature (UHT) processing. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 17, p. 7957–7963, 2008.