



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE TECNOLOGIA
CURSO DE ENGENHARIA QUÍMICA

LUCAS VÍTOR DE ARAÚJO SANTOS

**APLICAÇÕES DE ENZIMAS PECTINOLÍTICAS – DO LABORATÓRIO À
INDÚSTRIA: REVISÃO DE LITERATURA**

JOÃO PESSOA – PB

2023

LUCAS VÍTOR DE ARAÚJO SANTOS

APLICAÇÕES DE ENZIMAS PECTINOLÍTICAS – DO LABORATÓRIO À INDÚSTRIA:
REVISÃO DE LITERATURA

Trabalho Final de Curso apresentado ao Centro de Tecnologia, da Universidade Federal da Paraíba, como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia Química.

Orientador: Prof. Dr. Flávio Luiz Honorato da Silva

João Pessoa - PB

2023

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

S237a Santos, Lucas Vítor de Araújo.
Aplicações de Enzimas Pectinolíticas - Do
Laboratório à Indústria: Revisão de Literatura / Lucas
Vítor de Araújo Santos. - João Pessoa, 2023.
32 f. : il.

Orientação: Flávio Luiz Honorato da Silva.
TCC (Graduação) - UFPB/CT.

1. enzimas. 2. pectinases. 3. resíduos
agroindustriais. 4. agregação de valor. I. da Silva,
Flávio Luiz Honorato. II. Título.

UFPB/CT/BSCT

CDU 66.01(043.2)

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Tereza Cristina e Francisco de Assis, por todos os esforços para poder me proporcionar uma educação de qualidade, sempre me apoiando e incentivando aos estudos.

Aos meus familiares, que sempre acreditaram no meu potencial e que, de forma direta ou indireta me incentivaram aos estudos. Em especial aos meus avós, Adelgício e Braulita.

Aos amigos que fiz durante o curso, pela companhia, bons momentos e apoio mútuo durante os desafios superados durante a graduação. Em especial a Wesley Felipe, que esteve próximo em vários momentos.

Aos meus amigos de João Pessoa, em especial a Matheus, pelos longos anos de amizade, incentivo e bons momentos.

Ao professor Dr. Flávio Luiz Honorato da Silva, pela oportunidade concedida de iniciação científica durante mais de três anos no Laboratório de Bioengenharia, e também pela orientação durante esses anos.

A professora Dra. Sharline Florentino de Melo Santos, pelos ensinamentos em sala de aula, em laboratório e também pela orientação durante os anos de iniciação científica.

Aos demais professores do Departamento de Engenharia Química, pelos conhecimentos transmitidos e contribuição com a minha formação.

A Tatyana Patrício, pelos ensinamentos, incentivo e torcida durante os anos de iniciação científica.

A Empresa Júnior de Engenharia Química e Química Industrial da UFPB – PROJEQ, pelas experiências proporcionadas e pelo crescimento que tive ao fazer parte desse projeto tão enriquecedor.

Aos amigos da Raízen, que estão contribuindo muito com a minha formação profissional e que me acolheram tão bem em Piracicaba-SP, onde escrevi este trabalho.

A República Pau-A-Pique, que se tornou a minha casa durante o ano de 2023, também fica a minha gratidão aos seus moradores pelo acolhimento.

E a todos que, de forma direta ou indireta, contribuíram a minha formação e que me permitiram chegar nesse momento.

RESUMO

Também conhecidas como pectinases, as enzimas pectinolíticas atuam realizando a quebra da pectina, composto presente em diversas frutas e vegetais. A produção de enzimas, incluindo as pectinases, é uma forma viável de valorizar resíduos agroindustriais, que são utilizados como meio de cultivo. Em larga escala, é preferível utilizar a técnica de fermentação em estado sólido e fungos produtores, com destaque para o gênero *Aspergillus*. Este trabalho busca apresentar um panorama sobre as enzimas pectinolíticas e os elementos que a envolvem, como técnicas de produção e suas diversas formas de utilização. O levantamento bibliográfico foi feito utilizando como fonte o Google Acadêmico e repositórios digitais de instituições de ensino nacionais, usando critérios de termos presentes no título dos trabalhos e nas palavras-chave. Os resultados foram segmentados conforme o tipo de utilização das pectinases. A partir do levantamento bibliográfico e dos resultados expostos, foi possível destacar alguns pontos, como o crescimento nas últimas décadas do mercado de pectinases e a possibilidade de adaptação geográfica na produção das enzimas pectinolíticas.

Palavras-chave: enzimas, pectinases, resíduos agroindustriais, agregação de valor.

ABSTRACT

Also known as pectinases, pectinolytic enzymes act by breaking down pectin, a compound present in various fruits and vegetables. The production of enzymes, including pectinases, is a viable way to valorize agro-industrial waste, which is used as a cultivation medium. On a large scale, it is preferable to use solid-state fermentation technique and fungi producers, with emphasis on the *Aspergillus* genus. This work aims to provide an overview of pectinolytic enzymes and the elements involved, such as production techniques and their various forms of utilization. The literature review was conducted using Google Scholar as a source and digital repositories of national educational institutions, using criteria based on terms present in the titles and keywords of the works. The results were segmented according to the type of utilization of pectinases. Based on the literature review and the presented results, it was possible to highlight some points, such as the growth in the pectinase market in recent decades and the possibility of geographic adaptation in the production of pectinolytic enzymes.

Key-words: enzymes, pectinases, agro-industrial residues, value-added.

LISTA DE SIGLAS

FES: Fermentação em Estado Sólido

FSm: Fermentação Submersa

PG: Poligalacturonase

PMGE: polimetilgalacturonato esterase (Pectina esterase)

PMGL: Polimetilgalacturonato liase (Pectina liase)

PGL: Poligalacturonato liase (Pectato liase)

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Energia de ativação de reações com e sem catalisador.....	14
Figura 2 – Representação estrutural da molécula de pectina, sem a presença dos monossacarídeos.....	18
Figura 3 – Representação esquemática da molécula de pectina, destacando os grupos mais comuns de monossacarídeos presentes.....	18
Figura 4 - Modo de ação das pectinases em uma molécula de pectina	21
Figura 5 - Utilização de enzimas por etapa do processo têxtil.....	25

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Condições ótimas de cultivo	13
Tabela 2 – Teor de pectina presente em alguns tecidos vegetais	18
Tabela 3 - Exemplos de espécies de fungos produtores de pectinases	22
Tabela 4 - Aplicações das pectinases em setores da indústria	22
Tabela 5 - Resultados de viscosidade e turbidez.....	24
Tabela 6 - Trabalhos envolvendo a imobilização de enzimas.....	26

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
2. OBJETIVOS	10
2.1. Objetivos Gerais	10
3. METODOLOGIA	10
4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	10
4.1. Valorização de Resíduos Agroindustriais	10
4.1.1. Maracujá	11
4.1.2. Farelo de Trigo	12
4.2. Processos fermentativos	12
4.2.1. Fermentação Submersa	13
4.2.2. Fermentação em Estado Sólido (FES).....	13
4.3. Enzimas	14
4.3.1. Produção industrial de enzimas	16
4.3.2. Pectina	17
4.4. Enzimas pectinolíticas	19
4.4.1. Produção de pectinases por fungos	21
4.5. Aplicações industriais das enzimas pectinolíticas	22
4.5.1. Sucos e bebidas	23
4.5.2. Alimentos	24
4.5.3. Indústria têxtil	24
4.5.4. Extração de óleos vegetais	25
4.6. Enzimas Imobilizadas	25
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	27
6. REFERÊNCIAS	28

1. INTRODUÇÃO

Enzimas são substâncias orgânicas, normalmente proteínas, que atuam como catalisadores nas reações bioquímicas dos seres vivos, sendo capazes de realizar uma vasta gama de reações, muitas das quais são extremamente complexas de serem realizadas por síntese química (ILLANES, 2008).

As enzimas são utilizadas comercialmente antes mesmo de serem conhecidas suas origens e propriedades. Atualmente, são aplicadas industrialmente em diversos produtos, como bebidas, alimentos, ração animal, processamento de couro, biocombustível, detergentes, entre outros. Aplicações industriais representam mais de 80% do mercado mundial de enzimas, contando com aproximadamente 200 enzimas utilizadas comercialmente, de um todo de mais de 4000 conhecidas. (ILLANES, 2008; MESSIAS et al., 2011).

Um grupo relevante de enzimas de uso comercial são as enzimas pectinolíticas, ou pectinases, que atuam quebrando a pectina, um polissacarídeo presente em diversas frutas. Por conta disso, são utilizadas predominantemente na indústria de sucos e vinhos, para reduzir a viscosidade e na melhoria da eficiência da filtração e clarificação de sucos de frutas. Além disso, as pectinases vêm ganhando espaço em outros setores da indústria (UENOJO e PASTORE, 2007).

As enzimas produzidas em larga escala são em sua maioria originadas a partir de microrganismos, podendo ser via fermentação submersa (FSm) ou fermentação em estado sólido (FES). No caso das enzimas pectinolíticas, geralmente prefere-se utilizar a FES, método que se destaca, pois, os substratos típicos são resíduos agroindustriais, que atuam como fontes de carbono para o crescimento celular (RAO et al., 1998; UENOJO e PASTORE, 2007).

Isso é relevante especialmente em países como o Brasil, que é um grande produtor de diversas culturas agrícolas e um dos principais exportadores de alimentos do mundo. Essa alta produção de alimentos traz consigo uma grande geração de resíduos, que, com o desenvolvimento de processos biotecnológicos envolvendo fermentação, estão sendo usados na produção de diversos produtos de alto valor agregado, incluindo enzimas. (SOCCOL e VANDENBERGHE, 2002).

Nos próximos anos, espera-se que o mercado mundial de pectinases apresente crescimento, considerando uma grande demanda de bebidas em países da Europa e América Latina, além do aumento do interesse de consumo de alimentos prontos para o consumo e de embalados por pessoas em países desenvolvidos (Zion Market Research, 2023).

Nesse contexto, este estudo teve como objetivo revisar a literatura atual sobre a utilização de enzimas pectinolíticas. A motivação por trás da escolha desse tema teve início há quase três anos, quando comecei a fazer parte de um projeto de iniciação científica no Laboratório de Bioengenharia. Nesse tempo, pude ter contato direto com todas as etapas de laboratório que envolveram a produção da poligalacturonase e aplicação da enzima produzida em suco de Uva Itália. Essa experiência me trouxe um senso crítico na escolha e avaliação da bibliografia utilizada aqui.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivos Gerais

Realizar um levantamento bibliográfico da atual utilização de enzimas pectinolíticas no mundo.

3. METODOLOGIA

As fontes utilizadas para realização do levantamento bibliográfico desse estudo foram:

- Google Acadêmico: Plataforma escolhida por sua base de dados indexar uma grande variedade de fontes acadêmicas nacionais e internacionais, incluindo revistas científicas, repositórios institucionais, sites de universidades, eventos acadêmicos, etc.
- Repositórios digitais: Além do Google Acadêmico, também foi utilizado diretamente o repositório digital de instituições de ensino nacionais, em busca de teses, dissertações e trabalhos de conclusão de curso relacionados ao tema em questão.

Os filtros utilizados para selecionar os trabalhos partiu da visualização do título e palavras-chave, buscando os seguintes termos: “Enzimas pectinolíticas” , “pectinases”, “resíduos agroindustriais”.

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1. Valorização de Resíduos Agroindustriais

O reaproveitamento de resíduos agroindustriais é uma base de pesquisa que vem apresentando crescimento nos últimos anos, visto o aumento de demanda por estudos que buscam minimizar os desperdícios da produção e industrialização de alimentos.

Por serem subprodutos de processos agroindustriais, os resíduos são abundantes e possuem custo relativamente baixo no Brasil. De acordo com Rosa et al. (2011), resíduos podem

representar perda de biomassa e de nutrientes, além de aumentar o potencial poluidor que, associado à disposição inadequada, acarreta problemas de saúde pública.

Os resíduos podem ser reaproveitados de diversas formas: o estudo de Gaspar et al. (2020) mostra o uso de resíduos de uma agroindústria de hortaliças através do desenvolvimento da compostagem, uma técnica que permite a utilização de resíduos para transformá-los em fertilizante orgânico composto. A pesquisa de Caraschi, Leão e Chamma (2009) apresenta a utilização de casca de arroz para preparação de painéis para utilização na arquitetura, enquanto Brito e Rodrigues (2017) realizaram um estudo de caso sobre aproveitamento de serragem e outros resíduos de madeiras para produção de briquetes.

Uma maneira de reaproveitar resíduos agroindustriais é utilizando os mesmos em processos biotecnológicos. Pinheiro (2020) utilizou melaço de cana de açúcar como base do meio de cultivo para crescimento da levedura *Rhodotorula glutinis*, para posterior secagem em camada de espumas. Nagy (2018) estudou a produção de um biossurfactante de baixo custo utilizando resíduos de abacaxi e caju.

4.1.1. Maracujá

O Brasil é o maior produtor e consumidor mundial de maracujá, produzindo aproximadamente 684 mil de toneladas no ano de 2021 (IBGE, 2021). O maracujá pertence ao gênero *Passiflora*, e estimativas apontam que esse gênero é composto por mais de 500 espécies, das quais mais de 150 são nativas do Brasil. O cultivo do maracujá em solo nacional foi influenciado por tecnologias que foram implementadas com o objetivo de proporcionar maior resistência a doenças, maior produtividade e maior qualidade de frutos. As espécies com esse tipo de melhoramento genético são denominadas cultivares (FALEIRO, 2016).

De acordo com Silva et al. (2012), a casca do maracujá apresenta grande quantidade de vitaminas, minerais, proteínas e pectina, e suas concentrações variam de acordo com o estágio de maturação do fruto. Torrezan (1998) explica que frutas ligeiramente verdes tem maior teor de pectina que as muito maduras, pois conforme ocorre o amadurecimento da fruta, a pectina decompõe-se em ácido péctico. A pectina do maracujá é constituída de 76 a 78% de ácidos galacturônicos, 9% do grupo metoxila, galactose e arabinose (MACIEL, 2009).

Os nutrientes presentes na casca do maracujá aliados ao teor de pectina fazem do resíduo dessa fruta ter um perfil promissor para reaproveitamento como substrato em fermentação em estado sólido, inclusive para produção de enzimas pectinolíticas, e alguns estudos confirmam isso.

Maciel (2009) utilizou cascas de maracujá como substrato para crescimento do microrganismo *Aspergillus niger* URM4645 e produziu pectinases via fermentação em estado sólido (FES), obtendo pico de atividade de 31,35 U/g de endo-PG (com 96 horas) e 7,98 U/g de exo-PG (com 72 horas).

Souza (2008) utilizou o resíduo (casca e albedo) do maracujá-amarelo (*Passiflora edulis f. flavicarpa*) no estágio semi-maduro como meio de cultivo do fungo filamentoso *Aspergillus niger* CCT 0916 para produção de pectinases via fermentação em estado sólido, obtendo picos de 250 U/g de atividade pectinolítica e 20,9 U/g de atividade poligalacturonásica, em 44 e 66 horas de fermentação, respectivamente.

4.1.2. Farelo de Trigo

Um outro subproduto que pode ser utilizado como substrato em processos fermentativos é o farelo de trigo, sendo um dos mais estudados em vários tipos de processo.

A composição estrutural do farelo de trigo trata-se majoritariamente de celulose, hemicelulose e lignina. Por conta disso, o farelo de trigo é amplamente estudado e classificado como bom substrato para produção de enzimas via fermentação em estado sólido (FES). Nesse tipo de cultivo, o substrato sólido não apenas fornece os nutrientes para o microrganismo, como também atua como suporte para seu crescimento (PANDEY, 2002 apud SANTOS, 2007).

O estudo de Bakker, Santos e Macedo (2017) mostra a utilização do farelo de trigo para produção de xilanase via fermentação em estado sólido a partir do fungo *Aspergillus oryzae* CCT 0975 e *Trichoderma reesei* CCT 2768. O resultado ótimo de atividade enzimática de foi $1,84 \pm 0,01$ UI/mL, com pH 3,3, 900,0 μm de granulometria e umidade de 40%.

4.2. Processos fermentativos

A fermentação é uma das mais antigas formas de processamento de alimentos e bebidas, sendo utilizada desde a pré-história, na produção de pão, cerveja, vinho, entre outros. Na China, estudos mostraram evidências da produção de alimentos entre 2500 a 500 a.C que utilizavam como base o “koji”, que consiste numa massa umidificada de um cereal cozido na qual houve o crescimento de *Aspergillus oryzae* e a consequente produção de um complexo enzimático com atividade diastática (Del Bianchi et al., 2001).

Porém, apenas no século XIX, com os estudos de Louis Pasteur, foi descoberto que a fermentação era iniciada por organismos vivos e, em estudos seguintes feitos por Büchner e outros cientistas, descobriu-se melhor seu mecanismo de funcionamento (CORNISH-BOWDEN, 1997; TONOLLI, FRANCO e SILVA, 2021). Com o aprimoramento da

biotecnologia ao passar dos anos, os processos fermentativos passaram a ser utilizados cada vez mais na indústria.

Os processos de fermentação foram classificados em dois grupos, de acordo com o tipo de meio de cultivo: Fermentação em Estado Sólido (meio sólido) e Fermentação Submersa (meio líquido).

4.2.1. Fermentação Submersa

A fermentação submersa é o processo de crescimento de microrganismos no qual o meio fermentativo é líquido e os substratos utilizados são solúveis (FEITOSA, 2009). São preferíveis no uso industrial para produção de enzimas, pois a instrumentação e controle do processo são facilitadas (SANT'ANNA JR, 2001).

Um exemplo da utilização da fermentação submersa na produção de enzimas pectinolíticas é o estudo de Silva et al. (2021). Na pesquisa, os autores utilizaram o bagaço de malte, resíduo da indústria cervejeira, como fonte de carbono no cultivo de duas espécies de macrofungos (cogumelos): *Pleurotus djamor* e *Hypsizygus ulmarius*, que são classificados como basiomicetos. Os autores trazem que as variáveis que mais influenciaram o processo foram: concentração do bagaço de malte, temperatura e agitação. Os resultados de atividades ótimas estão na Tabela 1.

Tabela 1 – Condições ótimas de cultivo

Espécie	Concentração de bagaço de malte (g/L)	Temperatura (°C)	Agitação (rpm)	Atividade enzimática (U/mL)
<i>P. djamor</i>	30	29	75	2,544
<i>H. ulmarius</i>	30	24	150	2,367

Fonte: Silva et al. (2021)

4.2.2. Fermentação em Estado Sólido (FES)

A fermentação em estado sólido é definida como o processo de crescimento de microrganismos que ocorre em um meio de cultivo com ausência ou próximo a ausência de água livre, contendo teor de umidade suficiente apenas para manter o crescimento e o metabolismo do microrganismo (PANDEY, 2003).

Nesse processo, pode-se utilizar microrganismos tanto em seu estado natural (ensilagem ou compostagem) como na forma de culturas puras individuais, como enquadraram-se a maior parte das pesquisas nesta área (Del Bianchi et al. 2001).

A FES apresenta várias vantagens em relação a FS_m, dentre elas, pode-se destacar as seguintes (SANTOS, 2007):

- Técnica mais simples;
- Possibilidade de utilização de resíduos que são abundantes e de baixo custo como matéria-prima;
- Condições de cultivo mais próximas ao habitat natural do microrganismo;
- Apresentar maiores rendimentos do produto desejado.

Porém, também apresenta algumas desvantagens, como:

- Dificuldades no aumento de escala;
- Dificuldade em controlar parâmetros do processo (pH, umidade, condições de substrato).

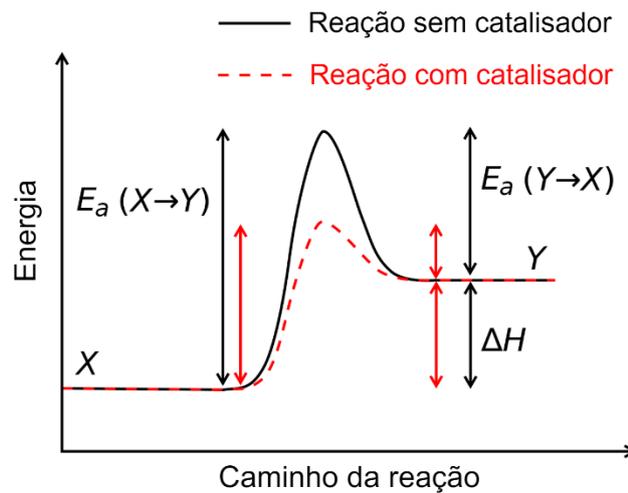
Atualmente, a FES é aplicada em diversos bioprocessos, como biorremediação e biodegradação de compostos perigosos, desintoxicação biológica de resíduos agroindustriais, biotransformação de culturas e resíduos agrícolas para enriquecimento nutricional (PANDEY, 2003). A FES também é aplicada visando a indústria de alimentos, como na produção de aromas, ácidos orgânicos, goma xantana e enzimas (COUTO e SANROMÁN, 2006).

De acordo com Raghavarao et al. (2006), muitos microrganismos são capazes de crescer em substratos sólidos, mas apenas fungos filamentosos podem crescer de maneira significativa com baixa disponibilidade de água livre. Como exemplos, pode-se citar o uso de culturas de *Rhizopus*, *Trichoderma*, *Penicillium* e *Aspergillus*.

4.3. Enzimas

Enzimas são grupos de substâncias orgânicas, geralmente proteínas, que são sintetizadas nas próprias células onde atuam, agindo como catalisadores nas reações bioquímicas dos seres vivos (TORRES, 2001). A ação catalisadora das enzimas ocorre por conta da diminuição da energia de ativação das reações, ou seja, elas reduzem a energia mínima necessária para que uma reação seja iniciada, como mostra a Figura 1.

Figura 1 - Energia de ativação de reações com e sem catalisador



Fonte: Wikipedia Commons (2006)

Apesar das enzimas estarem no cotidiano do ser humano há bastante tempo, atuando, por exemplo, em processos fermentativos, segundo Tonolli, Franco e Silva (2021), foi a partir do século XVII que houve um maior interesse na realização de estudos com o objetivo de investigar seu mecanismo de funcionamento. Já durante o século XX, os estudos foram mais direcionados a aplicações industriais e médicas.

O mercado mundial de enzimas industriais apresentou um grande crescimento nas últimas décadas, visto que em 1995 era avaliado em US\$ 1 bilhão e em 2022 foi mensurado em US\$ 6,95 bilhões (UENOJO e PASTORE, 2007; Grand View Research, 2022). O levantamento atual mostra que é prevista uma taxa de crescimento anual composto (CAGR) de 6,4% entre 2023 a 2030. Além disso, também mostra que a fonte microbiológica de produção domina o mercado industrial de enzimas, sendo responsável por 85,4% de receita (Grand View Research, 2022).

Os maiores produtores e consumidores de enzimas do mundo são os países da Europa e os EUA, e são usadas em diversos segmentos da indústria: 34% em detergentes, 28% em alimentos e bebidas, 18% em bioenergia, 15% em agricultura e ração animal e 7% sobre enzimas técnicas e farmacêuticas (NOVOZYMES, 2017 apud SARAIVA, 2020). As principais empresas produtoras de enzimas microbianas são as multinacionais Novozymes (Dinamarca), Dupont (EUA), BASF (Alemanha) e DSM (Holanda) (Grand View Research, 2016 apud SARAIVA, 2020).

O Brasil é o país que mais se destaca na produção de enzimas na América Latina, mesmo sendo essencialmente um importador desse produto. Os principais tipos de enzimas no mercado nacional são carboidrases, proteases, lipases e pectinases, que são aplicadas em processos de

panificação, laticínios e alimentos processados (Mordor Intelligence, 2019 apud SARAIVA, 2020)

As enzimas são produzidas pelas células de todos os organismos, sendo dividida em três grandes grupos: Animais, vegetais e microrganismos. A bromelina e a papaína são exemplos de enzimas de origem vegetal, e são obtidas a partir do abacaxi e do mamão, respectivamente. Ambas fazem parte do grupo de proteases e são de interesse comercial (PARK, 2001). Dentre as enzimas de origem animal, pode-se citar a pepsina e a pancreatina, por também possuírem interesse econômico. As enzimas com essa origem são obtidas a partir da maceração dos tecidos onde são produzidas (órgãos como estômago e pâncreas) (RODARTE, 2005).

A forma microbiológica para obtenção de enzimas passou a ser estudada como alternativa às fontes animal e vegetal, e apresenta vantagens, como baixos custos de produção e possibilidade de produção em larga escala, utilizando fermentadores industriais (RODARTE, 2005).

A intensidade da ação das enzimas em determinado momento pode ser representada através da atividade enzimática, que de acordo com a definição proposta pela IUB (unidade internacional – IU), considera uma unidade de atividade como a quantidade de enzima que catalisa a transformação de um micromol de substrato por minuto em condições de ensaio definidas (SANT’ANNA JR., 2001). Normalmente, os autores expressam seus resultados de atividade por massa ou volume de meio fermentado - U/g ou U/mL.

4.3.1. Produção industrial de enzimas

Industrialmente, as enzimas são produzidas em sua maioria via fermentação submersa, pois apresenta vantagens como instrumentação e controle de processo. Porém, esse processo também possui desvantagens, como maiores riscos de contaminação, maior necessidade de espaço e menores rendimentos. (SANT’ANNA JR., 2001)

A produção geralmente ocorre em fermentadores agitados mecanicamente, com capacidade entre 10.000 a 100.000 litros, operados em batelada (modo descontínuo). A fermentação em batelada para produção de enzimas pode durar de 30 a 150 horas. O parâmetro mais representativo para determinar o término da fermentação é a atividade enzimática. Porém, outros parâmetros também podem ser utilizados, como pH e oxigênio dissolvido (SANT’ANNA JR., 2001).

Sobre o meio de cultivo, normalmente são utilizados resíduos agroindustriais como substrato para crescimento dos microrganismos, por conta dos altos custos dos meios sintéticos. Os resíduos atuam como fontes de carbono e nitrogênio, atuando como suporte para o

crescimento do microrganismo, além de possuírem uma estrutura polimérica e composição rica em amido, lignocelulose e pectina (ROCHA, 2010).

Para produzir enzimas em larga escala para fins comerciais, é necessário selecionar os microrganismos produtores e otimizar as condições do processo, de modo a garantir a rentabilidade e eficiência do processo (SCHMID et al., 2001; KOELLER & WONG, 2001 apud RODARTE, 2005). Na etapa de otimização, alguns aspectos devem ser considerados, como a composição do meio de cultivo (concentração de substrato e microrganismo), temperatura de incubação, pH do meio de cultivo, aeração e uso de indutores (THIRY & CINGOLANI, 2002 apud RODARTE, 2005).

Estudos exploram uma ampla variedade de microrganismos e resíduos agroindustriais nesse tipo de obtenção de enzimas. Silva et al. (2018) produziu amilase e protease a partir da fermentação em estado sólido de *Metarhizium anisopliae*, utilizando algaroba como substrato. Souza (2016) produziu proteases utilizando o fungo filamentosso *Mucor subtilissimus* e farelo de soja como substrato.

As enzimas de origem microbiana são produzidas industrialmente em um processo que pode ser dividido em duas etapas: processo fermentativo e processo de separação e recuperação das enzimas. A separação e recuperação da enzima depende de como ela é produzida pelo organismo, podendo ser extracelular ou intracelular. As enzimas extracelulares são produzidas e expelidas pelas células em direção ao ambiente externo (substrato), enquanto as intracelulares permanecem dentro da célula e atuam no interior da mesma (ROCHA, 2010).

Por conta dessa diferença, o processo de recuperação para enzimas extracelulares é iniciado no líquido fermentado (Fermentação Submersa) ou no meio de cultivo (Fermentação em Estado Sólido), enquanto para enzimas intracelulares, é necessário utilizar algum método de ruptura celular. Por terem processos de extração e purificação menos custosos, as enzimas extracelulares possuem grande interesse comercial (MARQUART et al., 2002 apud RODARTE, 2005).

4.3.2. Pectina

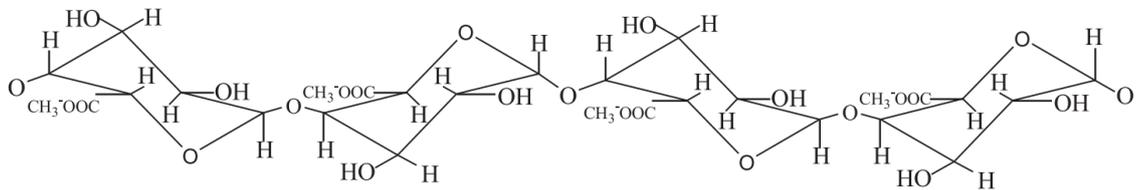
Pectina é um termo geral que designa ácidos pectínicos solúveis em água, com grau variável de grupo metil éster (UENOJO & PASTORE, 2007). Estão associadas à celulose, hemicelulose e lignina, sendo mais abundantes em frutos e em tecidos jovens, como por exemplo, cascas de frutas cítricas. As pectinas contribuem para a adesão entre as células e para a resistência mecânica da parede celular (BRANDÃO e ANDRADE, 1999). A Tabela 2 mostra o percentual de pectina em diferentes matérias primas.

Tabela 2 – Teor de pectina presente em alguns tecidos vegetais

Origem	Pectina (% em matéria seca)
Batata	1,8 a 3,3
Tomate	1,8 a 3,3
Maçã	5,0 a 7,0
Beterraba	15,0 a 20,0
Albedo cítrico	30,0 a 35,0

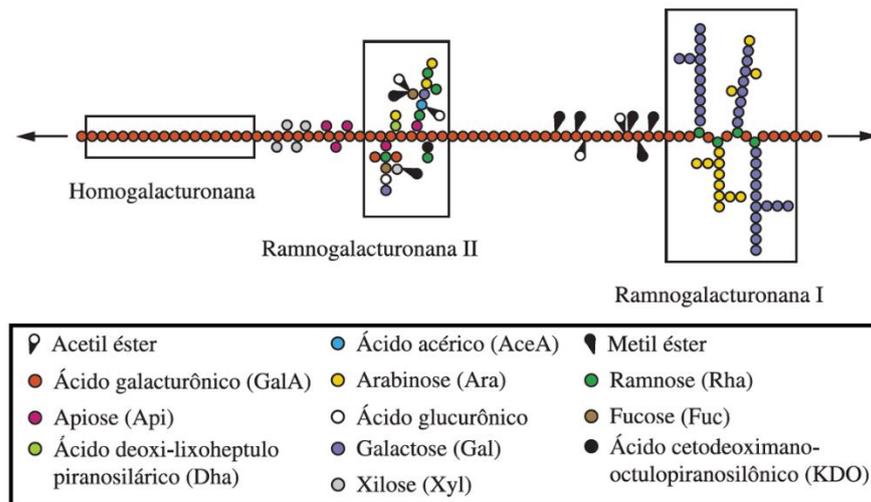
Fonte: Canteri et al. (2012)

A estrutura das moléculas das pectinas é composta por uma cadeia linear de unidades de α -D-ácido galacturônico e resíduos de monossacarídeos, como a L-ramnose, arabinose, galactose e xilose (UENOJO e PASTORE, 2007). A estrutura da pectina permite diversas variações, por isso, não possuem forma estrutural nem massa molecular fixas (SAKAI, 1993 apud MELO, 2016). As Figuras 2 e 3 trazem representações da molécula de pectina.

Figura 2 – Representação estrutural da molécula de pectina, sem a presença dos monossacarídeos

Fonte: Uenojo e Pastore (2007)

Figura 3 – Representação esquemática da molécula de pectina, destacando os grupos mais comuns de monossacarídeos presentes



Fonte: Melo (2016)

As substâncias pécticas são classificadas em quatro tipos principais (JAYANI; SAXENA e GUPTA, 2005):

- Protopectina: Presente em fibras intactas, é insolúvel em água;
- Ácido Péctico: Polímero solúvel de galacturonanas que contém quantidade insignificante de grupos metoxila;
- Ácidos Pectínicos: Cadeia de poligalacturonanas que contém até 75% de unidades de galacturonato metilado;
- Pectina (Polimetil galacturonato): Material polimérico que contém ao menos 75% de grupos carboxila. Na parede celular, proporciona rigidez à quando ligado a celulose.

As pectinas são utilizadas industrialmente como agente de gelificação, ou seja, conferem textura de geleia nos produtos. Por isso, são usadas nas indústrias processadoras de frutas, na produção de doces e confeitos, em confeitaria industrial, na indústria láctea, na indústria de bebidas e em comestíveis finos. Sua característica de conferir viscosidade e estabilizar emulsões também possibilita seu uso em suspensões em várias preparações farmacêuticas líquidas (Revista Aditivos & Ingredientes, 2016).

4.4. Enzimas pectinolíticas

Enzimas pectinolíticas, ou pectinases, são um grupo de enzimas que quebram a pectina, substância presente principalmente em células vegetais. São produzidas por plantas, fungos filamentosos, algumas bactérias e poucas leveduras (SOUZA, 2008).

De acordo com Uenojo e Pastore (2007), a classificação das enzimas pectinolíticas é feita de acordo com o modo de ataque à molécula de polímeros pécticos, sendo feita pela

preferência do substrato (pectina, ácido péctico ou protopectina), pela ação (transeliminção ou hidrólise) e pelo tipo de clivagem (randômica ou terminal). Assim, as pectinases podem ser divididas em três tipos, listadas a seguir (UENOJO e PASTORE, 2007). O mecanismo de atuação delas podem ser vistos na Figura 4.

- **Pectina esterase:** Também chamada de polimetilgalacturonato esterase (PMGE), essa enzima remove os grupos metil éster da pectina, convertendo-a em pectato e liberando metanol (UENOJO e PASTORE, 2007). Apresenta valores de pH ótimo variando entre 4 a 8, e temperatura ótima de 40 a 50°C (JAYANI; SAXENA e GUPTA, 2005).

- **Protopectinases:** Hidrolisam a protopectina insolúvel, formando pectina solúvel polimerizada. Não são muito abundantes e possuem pouco interesse industrial na quebra da pectina (SOUZA, 2008; UENOJO & PASTORE, 2007).

- **Despolimerases:** As enzimas desse tipo aceleram a quebra das ligações α -1,4 entre os monômeros do ácido D-galacturônico da cadeia de galacturonana (SANTOS, 2007). As despolimerases são subdivididas pela ação hidrolítica (hidrolases) ou transeliminativa (liases), pelo mecanismo de atuação endo- (randômico) ou exo- (a partir do final da molécula) e pela preferência por ácido péctico ou pectina como substrato (UENOJO & PASTORE, 2007).

- **Hidrolases:** Esse grupo é composto pelas polimetilgalacturonases (PMG) e as poligalacturonases (PG), e podem apresentar ação de hidrólise dos tipos endo- (randômica) ou exo- (sequencial).

As polimetilgalacturonases (PMG) presumivelmente realizam a hidrólise de polimetilgalacturonatos, transformando-os em oligometilgalacturonatos. São citadas em algumas literaturas, mas alguns autores questionam sua existência (UENOJO e PASTORE, 2007).

As poligalacturonases (PG) correspondem ao grupo mais abundante de enzimas pectinolíticas, sendo as mais estudadas (JAYANI; SAXENA e GUPTA, 2005; SHARMA, 2012). Elas catalisam a quebra das ligações glicosídicas α -1,4 entre dois resíduos de ácido galacturônico pela adição de água (hidrólise) (UENOJO e PASTORE, 2007).

Grande parte das poligalacturonases obtidas de diferentes microrganismos possuem pH ótimo de atividade na faixa entre 3,5 a 5,5, e temperatura ótima na faixa entre 30 a 50°C (JAYANI; SAXENA e GUPTA, 2005).

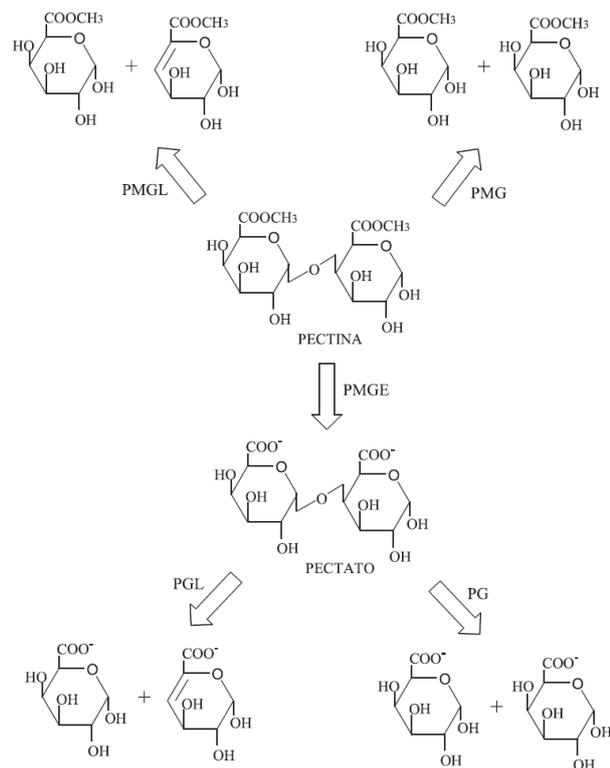
- **Liases:** Também conhecidas como transeliminases, essas enzimas quebram as ligações glicosídicas entre os carbonos 4 e 5 do final não redutor do ácido

galacturônico formado (SANTOS, 2007). Esse grupo inclui a pectina liase e a pectato liase, que também são subdivididas entre endo e exo.

A pectina liase (polimetilgalacturonato liase – PMGL) atua preferencialmente no ácido pectínico e realiza a clivagem das ligações por transeliminção do hidrogênio dos carbonos das posições 4 e 5 da porção aglicona do substrato (UENOJO e PASTORE, 2007). Possui pH ótimo em torno de 5,5 e temperatura ótima entre 40 e 50°C (MAYANS, 1997).

A pectato liase (poligalacturonato liase - PGL) possui preferência por ácido pectico como substrato e possui pH ótimo entre 7,5 e 10 e temperatura ótima também entre 40 e 50°C (MAYANS et al., 1997; JAYANI; SAXENA e GUPTA, 2005).

Figura 4 - Modo de ação das pectinases em uma molécula de pectina



Fonte: Uenojo e Pastore (2007)

4.4.1. Produção de pectinases por fungos

Estima-se que as enzimas pectinolíticas produzidas por microrganismos representam 25% das vendas mundiais de enzimas alimentares (SHARMA, 2012). Várias espécies de fungos

são estudadas e classificadas como produtoras de pectinases. A Tabela 3 mostra essa diversidade.

Tabela 3 - Exemplos de espécies de fungos produtores de pectinases

Espécie de fungo	Autores
<i>Gongronella butrelli</i>	Braga; Baffi; Prado (2023)
<i>Pycnoporus sanguineus</i>	Videira (2021)
<i>Annulohyphoxylon stygium</i> DR47	Luca (2017)
<i>Aspergillus japonicus</i>	Guimarães (2023)
<i>Thermoascus aurantiacus</i>	Guimarães (2023)
<i>Aspergillus niger</i>	Vários autores
<i>Pleurotus djamor</i>	Silva et al. (2021)
<i>Hypsizygus ulmarius</i>	Silva et al. (2021)

Fonte: O autor

Em aplicações industriais, prefere-se utilizar o fungo filamentosso *Aspergillus niger*, pois além de ser produtor de várias enzimas (especialmente pectinases), também produzem altos níveis de proteínas e são considerados seguros quanto à toxicidade (VRIES; VISSER, 2001 apud MACIEL 2009).

4.5. Aplicações industriais das enzimas pectinolíticas

As pectinases foram um dos primeiros grupos de enzimas que foram aplicadas industrialmente, com os primeiros registros de utilização na década de 1930, na indústria de sucos e vinhos (UENOJO E PASTORE, 2007). Desde então, sua utilização foi ganhando espaço em indústrias de diversos segmentos, como mostra a Tabela 4.

Tabela 4 - Aplicações das pectinases em setores da indústria

Indústria	Aplicação
Sucos e vinhos	Melhoria do rendimento da extração de sucos, filtração e clarificação
Alimentos	Produção de purês, polpas de frutas, ração animal, alimentos funcionais (prebióticos)

Têxtil	Facilitar a lavagem de tecidos, removendo a camada de pectina que recobre as fibras
Extração e recuperação de óleos	Melhoria na extração de óleos vegetais, resultando em um produto com alta qualidade; Aumenta o rendimento e qualidade do produto na recuperação de óleos essenciais
Chá e café	Aceleram a fermentação e melhora qualidade dos produtos

Fonte: Santi (2014); Uenojo e Pastore (2007)

4.5.1. Sucos e bebidas

As substâncias pécticas presente nas frutas são responsáveis por garantir viscosidade e alta turbidez aos sucos, o que dificulta a filtração e concentração, além de não ser bem aceito pelos consumidores. É importante destacar o lado do público, visto que o contrário ocorre com o extrato de tomate, por exemplo, onde o produto precisa apresentar turbidez para ser aceito (ISHII, 2014).

Nas indústrias de sucos, as pectinases são utilizadas em conjunto com outras enzimas, como celulasas e hemicelulasas, combinação chamada de “enzimas de maceração”. Essa mistura possui um efeito de sinergia bastante eficaz no tratamento de polpas, tornando-a com baixa viscosidade e uma menor quantidade de resíduos (UENOJO E PASTORE, 2007).

As enzimas pectinolíticas preferencialmente usadas nesse tipo de indústria são as de origem fúngica, que pode ser explicado pelo fato de enzimas com essa origem apresentarem pH ótimo próximos ao pH da maioria dos sucos de frutas, entre 3,5 e 5,5 (MOYO et al., 2003 apud MACIEL, 2009).

Na indústria de vinhos, são utilizadas por promoverem uma maior extração dos compostos químicos presente nas uvas, como os fenólicos, que são responsáveis por conferir coloração e sabor característico dos vinhos. Resultando assim em um vinho com maior qualidade e maior resistência ao envelhecimento (OLIVIER et al., 2008).

Nesse caso, são preferidas as preparações de pectinases comerciais com alta atividade de pectina liase e baixa atividade de pectina metil esterase, por minimizarem a liberação de metanol dos ácidos poligalacturônico metilados durante a produção do vinho (UENOJO E PASTORE, 2007).

A aplicação de enzimas pectinolíticas em sucos e bebidas é alvo de estudos de muitos pesquisadores. Um exemplo é o trabalho de Sandri e Silveira (2018), que estudaram a influência

da concentração de pectina e glicose na produção de pectinases pelo microrganismo *Aspergillus niger* LB-02-SF. O pico de atividade pectinolítica foi de 68 U/g, no experimento conduzido na ausência de glicose e 6% m/m de pectina. Os autores também observaram que a pectina em altas concentrações resultou em baixas atividades pectinolíticas, causadas provavelmente pela diminuição da quantidade de água livre no sistema, que prejudicou o crescimento celular e, conseqüentemente, a produção de enzimas.

As enzimas produzidas foram extraídas e testadas na clarificação de suco de morango, e teve resultados comparados com a enzima disponível comercialmente. Alguns resultados estão dispostos na Tabela 5.

Tabela 5 - Resultados de viscosidade e turbidez

Parâmetro	Suco não tratado (Controle)	Suco tratado com enzima comercial	Suco tratado com enzima produzida
Viscosidade (mPa.s)	2898,67 ± 263,44	999,34 ± 110,40	1133,33 ± 47,25
Turbidez (NTU)	2360 ± 378,02	145,36 ± 16,69	156,67 ± 33,26

Fonte: Sandri & Silveira, 2018 (adaptado).

4.5.2. Alimentos

O uso das enzimas pectinolíticas na indústria de alimentos não está restrito apenas em sucos e outras bebidas, mas também na área de alimentos funcionais. Os oligogalacturonídeos, que são produtos de degradação da PG, são classificados como “prebióticos”, pois eles não são hidrolisados ou absorvidos na parte superior do trato gastrointestinal. Além disso, promovem efeitos benéficos na saúde, estimulando o crescimento de bactérias que são benéficas e reprimindo patógenos (LANG, 2000 apud UENOJO e PASTORE, 2007).

As pectinases também são utilizadas na produção de ração animal, onde são misturadas com outras enzimas, com a finalidade de reduzir a viscosidade desses produtos, que aumenta a absorção de nutrientes e aumenta a liberação de nutrientes, tanto por hidrólise das fibras ou por liberar nutrientes bloqueados pelas fibras (JAYANI; SAXENA e GUPTA, 2005).

4.5.3. Indústria têxtil

O uso de enzimas na indústria têxtil é uma forma ecológica de substituir produtos químicos no processo, o que reduz danos às fibras dos tecidos e também diminui impactos ambientais (MARROQUES, 2020).

Entre as enzimas utilizadas industrialmente, as mais usadas são amilase, lipase, pectinase, oxidase, catalase, peroxidase, celulase e protease, que são aplicadas em etapas diferentes do processo, mostradas na Figura 5.

Figura 5 - Utilização de enzimas por etapa do processo têxtil



Fonte: Ferreira (2012)

As enzimas pectinolíticas atuam nos tecidos facilitando a lavagem de impurezas não celulósicas (ceras, pectina, proteínas, hemiceluloses), removendo a pectina que envolve as fibras (MONTEIRO e SILVA, 2009). A pectina atua como um material adesivo entre a celulose das fibras e os materiais não celulósicos (EINSCHLAG, 2011).

No processo convencional de purga, usa-se hidróxido de sódio, altas temperaturas (70 a 90°C) e pH elevado. Já com a aplicação de enzimas, pode-se usar condições menos agressivas ao tecido, como pH entre 6 e 8 e temperatura de 50 a 60°C (SILVA, 2013).

4.5.4. Extração de óleos vegetais

Outra possível aplicação das enzimas pectinolíticas é na extração de óleos, visto que métodos tradicionais resultam em baixos rendimentos, produtos de baixa qualidade e um curto tempo de vida útil, por conta do teor de umidade relativamente alto (MARABESSY et al., 2010).

Um estudo publicado por Ajayi et al. (2021) mostra a otimização da produção de pectinases utilizando cascas de abacaxi e a aplicação na extração de óleo de coco. A enzima foi produzida pelo microrganismo *Aspergillus niger* via fermentação em estado sólido, com condições ótimas de 40°C de temperatura, pH 5,0 e 1% de concentração de substrato.

A enzima produzida em laboratório que foi parcialmente purificada mostrou-se mais eficaz que a enzima comercial no processo, com 62,5% de rendimento na extração, comparado com 58,3% da enzima comercial e 20,8% do método tradicional.

4.6. Enzimas Imobilizadas

Foram observadas oportunidades em linhas de estudo envolvendo a otimização da estabilidade das enzimas, através do método de imobilização, como Vaz (2019), Dal Magro (2020), Gaio (2016) e Bustamante (2015) utilizaram com a pectinase, apresentando bons resultados. Alguns dos resultados estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 - Trabalhos envolvendo a imobilização de enzimas

Autor	Título	Resultados
Vaz (2019)	Estudos de imobilização de pectinase de <i>Aspergillus terreus</i> .	Após a imobilização, houve melhora de até 200% na termoestabilidade da enzima; Significativa redução de viscosidade da viscosidade do suco de goiaba após a aplicação da enzima imobilizada.
Dal Magro (2020)	Desenvolvimento de biocatalisadores compostos por pectinases e celulases imobilizadas para a clarificação de sucos de frutas	Altas atividades enzimáticas obtidas em condições de imobilização mais lenta (alta força iônica); Melhores resultados foram alcançados utilizando o reator de leito fluidizado, provavelmente devido à melhor difusão de massa desse sistema.
Gaio (2016)	Avaliação da atividade e estabilidade de pectinases comerciais imobilizadas e submetidas ao tratamento com gás liquefeito de petróleo	Observado um aumento da estabilidade tratadas com fluido pressurizado (GLP), que mostra influência do gás sobre a estabilidade e atividade enzimática; Enzimas PME e PMGL do complexo Pectinex® Mash imobilizadas e tratadas com o gás GLP apresentaram atividade relativa até o 7º ciclo de utilização tanto para clarificação quanto para redução de turbidez.
Bustamante (2015)	Estudo da termorresistência da pectinase comercial de <i>Aspergillus niger</i> livre e	Os melhores resultados foram a 4°C para a pectinase imobilizada, a qual apresentou hiperativação da atividade enzimática,

imobilizada em espuma rígida de poliuretano	aumentando em 98 % a atividade inicial após 229 dias de estocagem e, também, a 80°C e 55°C onde a retenção da atividade inicial foi 28,7 % e 40 % após 3 e 44 dias de armazenamento, respectivamente. Considerou-se 100% como a atividade inicial.
---	--

Fonte: O autor

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A análise dos trabalhos encontrados na revisão bibliográfica mostra a importância das enzimas pectinolíticas, que vem sendo utilizadas industrialmente há quase 100 anos. Sua produção feita de forma biotecnológica utilizando resíduos agroindustriais como meio de cultivo mostra-se como uma forma eficaz de gerar produtos de alto valor agregado.

Alguns pontos que se destacaram sobre as enzimas pectinolíticas durante a análise dos trabalhos encontrados foram:

- Alta variedade não apenas de espécies produtoras, mas também de resíduos agroindustriais que são possíveis de serem utilizados;
- Possibilidade de adaptação geográfica para produção, ou seja, é possível utilizar resíduos que sejam mais disponíveis e mais baratos de uma determinada região;
- Grande crescimento de mercado apresentado nos últimos 20 anos, ainda com projeções de crescimento no futuro próximo.
- Boa variedade de setores da indústria que vem utilizando as pectinases, sendo a indústria de sucos e vinhos a principal delas.

6. REFERÊNCIAS

- Aditivos & Ingredientes. **Pectinas: Ação e utilização nos alimentos**. Editora Insumos LTDA, 2016.
- AJAYI, A. A.; LAWAL, B.; SALUBI, A. E.; ONIBOKUN, A. E.; ONIHA, M. I.; AJAYI, O. M. **Pectinase Production by *Aspergillus niger* using Pineapple Peel Pectin and Its Application in Coconut Oil Extraction**. IOP Conference Series.: Earth and Environmental Science, 2021.
- BAKKER, C. M. C. N.; SANTOS, E. S.; MACEDO, G. R. **Produção de xilanases por fermentação em estado sólido, de farelo de trigo utilizando consórcios fúngicos**. Higiene Alimentar – Vol. 31 – nº 266/267 – Mar/Abr – 2017.
- BRAGA, H. F.; BAFFI, M. A.; PRADO, H. F. A. **Farinha do caroço de abacate como substrato alternativo para produção de pectinases por *Gongronella butleri***. Journal of Biotechnology and Biodiversity, v.11, n.1. 2023.
- BRANDÃO, E. M.; ANDRADE, C. T. **Influência de fatores estruturais no processo de gelificação de pectinas de alto grau de metoxilação**. Polímeros, São Carlos, v. 9, n. 3, p. 38-44, Set. 1999.
- BRITO, J. C. M.; RODRIGUES, R. A. **Aproveitamento de resíduos de madeiras para produção de briquetes em madeireira do sul de Minas Gerais**. Artigo de evento. FEPESMIG. Minas Gerais, 2017.
- BUSTAMANTE, C. E. V.; TORMENN, P.; PERTILE, T.; MORESCO, E.; TONIAZZO, G.; DALLAGO, R. M. **Estudo da termorresistência da pectinase comercial de *Aspergillus niger* livre e imobilizada em espuma rígida de poliuretano**. Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica (COBEQ-IC). Campinas, 2015.
- CANTERI, M. H. G., MORENO, L. WOSIACKI, G.; SCHEER, A. P. **Pectina: da Matéria-Prima ao Produto Final**. Polímero, vol. 22, n. 2, p. 149-157, 2012.
- CORNISH-BOWDEN, Athel. **New beer in an old bottle: Edward Buchner and the growth of biochemical knowledge**. Valencia: Universitat de València, 1997.
- COUTO, S. R.; SANROMÁN, M. A. **Application of solid-state fermentation to food industry – A review**. Journal of Food Engineering. Vol 76. Cap. 3. p. 291-302.
- DAL MAGRO, L. **Desenvolvimento de biocatalisadores compostos por pectinases e celulases imobilizadas para a clarificação de sucos de frutas**. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2020.
- DEL BIANCHI, V. L.; MORAES, I. O.; CAPALBO, D. M. F. **Biotecnologia Industrial: Engenharia Bioquímica**. Vol.2. Cap. 13. Fermentação em Estado Sólido. p.247. São Paulo, Editora Edgard Blücher Ltda, 2001.
- FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V. **Maracujá: O produtor pergunta, a Embrapa responde**. Brasília, DF: Embrapa, 2016. 341 p.
- FEITOSA, I. C. **Produção de enzimas lipolíticas utilizando bactéria isolada de solo com histórico de contato com petróleo em fermentação submersa**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Processo) – Universidade Tiradentes. Aracaju, 2009.

FERREIRA, F. C. S. **Avaliação dos efeitos da aplicação da enzima celulase nas propriedades de substratos têxteis de algodão.** Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2012.

GAIO, I. **Avaliação da atividade e estabilidade de pectinases comerciais imobilizadas e submetidas ao tratamento com gás liquefeito de petróleo.** Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2016.

GOMES, E.; GUEZ, M. A. U.; MARTIN, N.; SILVA, R. **Enzimas Termoestáveis: Fontes, Produção e Aplicação Industrial.** Quim. Nova, Vol. 30, No. 1, 136-145, 2007.

GRAND VIEW RESEARCH. **Industrial Enzymes Market Size, Share & Trends Analysis Report By Product, By Source (Plants, Animals), By Application (Food & Beverages, Detergents, Animal Feed), By Region, And Segment Forecasts, 2023 – 2030.** Califórnia, 2022.

GUIMARÃES, N. C. A. **Produção, purificação e caracterização bioquímica de pectinases de *Aspergillus japonicus* e *Thermoascus aurantiacus*: Aplicação da enzima de *A. japonicus* na clarificação de sucos de frutas.** Tese (Doutorado em Bioquímica e Biologia Molecular) – Universidade Federal do Mato Grosso do Sul. Campo Grande, 2023.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Produção Agrícola Municipal, 2021.**

ILLANES, A. **Enzyme Biocatalysis: Principles and Applications.** Londres: Springer, 2008.

ISHII, H. A. **Aplicações da Pectinase na Indústria de Sucos.** 2014. 35f. Monografia (Graduação em Engenharia Bioquímica) – Universidade de São Paulo. Lorena, 2014.

JAYANI, R. S.; SAXENA, S.; GUPTA, R. **Microbial pectinolytic enzymes: a review.** Process Biochemistry 40. Índia, 2005. p. 2931-2944.

LUCA, R. C. **Otimização da produção de pectinases e de β -glicosidase do fungo *Annulohyphoxylon stygium* DR47 em resíduos agroindustriais.** Monografia (Graduação em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2017.

MACIEL, M. D. H. C. **Produção e caracterização parcial de pectinases de *Aspergillus Niger* por fermentação em estado sólido da palma forrageira e da casca do maracujá.** Dissertação (Mestrado em Biologia de Fungos) – Universidade Federal de Pernambuco, 2009.

MAYANS, O.; SCOTT, M.; CONNERTON, I.; GRAVESEN, T.; BENEN, J.; VISSER, J.; PICKERSGILL, R.; JENKINS, J. **Two crystal structures of pectin lyase A from *Aspergillus* reveal a pH driven conformational change and striking divergence in the substrate-binding clefts of pectin and pectate lyases.** Structure, v.5, p.677-689, 1997.

MARASABESSY, A.; MOEIS M.R; SANDERS, J.P; WEUSTHUIS, R.A. **Coconut oil extraction by the traditional Java method: an investigation of its potential application in aqueous *Jatropha* oil extraction.** Biomass Bioenerg 34(8): 1141-8. 2010.

MARQUART, M. M.; PAVAN, V.; GERMANI, J. C. **Estudos de obtenção de proteases por *Bacillus cereus* em meio de proteína de soja.** In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE BIOTECNOLOGIA ENZIMÁTICA, 5., 2002, Brasília. Resumo, Brasília, DF, 2002.

MARROQUES, J. C. **Aplicação de enzimas na indústria têxtil.** Monografia (Graduação em Engenharia Química) – Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia, 2020.

- MELO, N. E. T. **Desenvolvimento e aplicações de pectinases como “ferramentas” biotecnológicas.** Monografia (Graduação em Biotecnologia) – Universidade Federal de Uberlândia. Patos de Minas, 2021.
- MESSIAS, J. M.; COSTA, B. Z.; LIMA, V. M. G.; GIESE, E. C.; DEKKER, R. F. H.; BARBOSA, A. M. **Lipases microbianas: Produção, propriedades e aplicações biotecnológicas.** Semina: Ciência Exatas e Tecnológicas, v.32, n. 2, p. 213-234. Londrina, 2011.
- MONTEIRO, V. N.; SILVA, R. N. **Aplicações Industriais da Biotecnologia Enzimática.** Revista Processos Químicos, Jan/ Jun 2009.
- NAGY, J. M. **Produção de biossurfactante de baixo custo a partir de resíduos agroindustriais.** Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia, 2018.
- OLIVIER, M. N.; CERUTTI, E. C.; TOMIM, G. C.; FREITAS, M. B.; ROTILI, M. C. C.; GREGÓRIO, N. P. **Aplicação da enzima pectinase na vinificação.** Arq. Ciênc. Saúde Unipar, Umuarama, v. 12, n. 2, p. 133-138, maio/ago. 2008.
- PANDEY, A. **Solid-state fermentation.** Biochemical Engineering Journal. V. 13, p. 81-84, 2003. [https://doi.org/10.1016/S1369-703X\(02\)00121-3](https://doi.org/10.1016/S1369-703X(02)00121-3).
- PARK, Y. K. Produção de enzimas industriais de origem vegetal. In: LIMA, U. A. , AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHIMIDELL, W. (Coords). **Processos fermentativos e enzimáticos.** São Paulo: Editora Edigard Blucher, 2001, v. 3, cap. 14. (Série Biotecnologia Industrial).
- PINHEIRO, W. S. **Secagem da biomassa de levedura (*Rhodotorula glutinis*) em camada de espuma (Foam-mat drying).** Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa, 2020.
- RAO, M. B.; TANKSALE, A. M.; GHATGE, M. S.; DESHPANDE, V. V. Molecular and biotechnological aspects of microbial proteases. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, Washington, v. 62, n. 3, p. 597-635, Sept. 1998.
- ROCHA, C. P. **Otimização da Produção de Enzimas por *Aspergillus niger* em fermentação em estado sólido.** Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia, 2010.
- RODARTE, M. P. **Atividade proteolítica de bactérias, leveduras e fungos isolados dos frutos e grãos de café (*Coffea arabica L.*).** Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) - Universidade Federal de Lavras. Lavras, 2005. 86 p.
- ROSA, M. F. et al. **Valorização de resíduos da agroindústria.** II Simpósio Internacional sobre Gerenciamento de Resíduos Agropecuários e Agroindustriais, Foz do Iguaçu/PR, 2011.
- SAKAI, T.; SAKAMOTO, T.; HALLAERT, J.; VANDAMME, E. **Pectin, Pectinase, and Protopectinase: Production, Properties, and Applications.** Advances in Applied Microbiology, v. 39, p. 213-294, 1993.
- SANDRI, I. G.; SILVEIRA, M. M. **Production and Application of Pectinases from *Aspergillus niger* Obtained in Solid State Cultivation.** Beverages, 4(3), 48. 2018. <https://doi.org/10.3390/beverages4030048>

SANT'ANNA JR., G. L. Produção de enzimas microbianas. Em: LIMA, U. A., AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHIMIDELL, W. (Coords). **Processos fermentativos e enzimáticos**. São Paulo: Editora Edigard Blucher, 2001, v. 3, cap. 14. (Série Biotecnologia Industrial).

SANTI, L.; BERGER, M.; SILVA, W. O. B. **Pectinases e Pectina: Aplicação Comercial e Potencial Biotecnológico**. Caderno Pedagógico, v. 11, n. 1, p. 130-139. Lajeado, 2014.

SANTOS, S. F. M. **Estudo da produção de pectinases por fermentação em estado sólido utilizando pedúnculo de caju como substrato**. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal, RN, 2007.

SARAIVA, A. L. R. **Otimização da produção de pectinases fúngicas via fermentação submersa**. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) – Universidade Federal de Lavras, 2020.

SHARMA, N., RATHORE, M., SHARMA, M. **Microbial pectinase: source, characterization and applications**. Reviews in Environmental Science and Biotechnology, 2013.

SILVA, C. C.; MENEZES, B. S.; SOUZA LEITE, J. G. B.; ASSIS, F. G. V.; LEAL, P. L. **Utilização do bagaço de malte da indústria cervejeira como substrato para produção de pectinase por cogumelos**. Brazilian Journal of Animal and Environmental Research, Curitiba, v.4, n.4, p. 5042-5060. 2021.

SILVA, G. M. H. et al. **Produção de amilase e protease obtidas por *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* através da fermentação em estado sólido**. Revista Saúde & Ciência Online, v. , n. 2, 2018. 502 p.

SILVA, L. G. M. S. **Biopurga de malha de algodão utilizando processo enzimático com associação de enzimas**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2013.

SOCOL, C. R. VANDENBERGHE, L. P. S. **Overview of applied solid-state fermentation in Brazil**. Biochemical Engineering Journal, v. 13, p. 205-218, 2003.

SOUZA, R. L. A. **Produção de pectinases por fermentação semisólida utilizando resíduo do maracujá como substrato**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Campina Grande. Campina Grande, 2008.

SOUZA, K. P. S. **Produção e extração das proteases de *Mucor subtilissimus* UCP 1262 cultivado em fermentação sólida e submersa**. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Pernambuco. Recife, 2016.

TONOLLI, P. N.; FRANCO, F. F.; SILVA, A. F. G. **A construção histórica do conceito de enzima e sua abordagem em livros didáticos de biologia**. História, Ciências, Saúde – Manguinhos, Rio de Janeiro, v.28, n.3, jul.-set. 2021, p.727- 744.

TORRES, B. B. Elementos de Enzimologia. Em: LIMA, U. A. , AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHIMIDELL, W. (Coords). **Fundamentos**. São Paulo: Editora Edigard Blucher, 2001, v. 1, cap. 5. (Série Biotecnologia Industrial).

TORREZAN, R. **Manual para a produção de geléias de frutas em escala industrial**. EMBRAPA – CTAA. Rio de Janeiro, 1998.

UENOJO, M.; PASTORE, G. M. **Pectinases: Aplicações Industriais e Perspectivas**. Quím. Nova, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 388-394, Abril 2007.

VAZ, R. P. **Estudos de imobilização de pectinase de *Aspergillus terreus***. Tese (Doutorado em Biologia Molecular) – Universidade de Brasília. Brasília, 2019.

VIDEIRA, T. C. **Produção de pectinases por cultivo em estado sólido do fungo *Pycnoporus sanguineus* em resíduos agroindustriais**. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade e Meio Ambiente) – Universidade Federal da Grande Dourados. Dourados, 2021.

Zion Market Research. **Pectinase Market Size, Share, Growth Report 2030**. Abr, 2023.