

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

NÍCOLLAS EMANUEL TOLENTINO MELO

**DESENVOLVIMENTO E APLICAÇÕES DE PECTINASES COMO “FERRAMENTAS”
BIOTECNOLÓGICAS**

PATOS DE MINAS – MG
JUNHO DE 2021

NÍCOLLAS EMANUEL TOLENTINO MELO

**DESENVOLVIMENTO E APLICAÇÕES DE PECTINASES COMO “FERRAMENTAS”
BIOTECNOLÓGICAS**

“Monografia apresentada ao Instituto de Biotecnologia da Universidade Federal de Uberlândia – UFU, como requisito para obtenção do título de bacharel em Biotecnologia.”

Prof. Dr. Gilvan Caetano Duarte

PATOS DE MINAS – MG

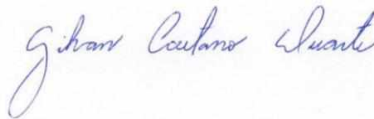
JUNHO DE 2021

NÍCOLLAS EMANUEL TOLENTINO MELO

Desenvolvimento e aplicações de pectinases como “ferramentas” biotecnológicas

“Monografia apresentada ao Instituto de Biotecnologia da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito para obtenção do título de bacharel em Biotecnologia.”

Banca Examinadora:



Prof. Dr. Gilvan Caetano Duarte – IBTEC -UFU

Presidente



Profa. Dra. Paula Marcela Duque Jaramillo – UDF

Membro



Profa. Dra. Líbia Diniz Santos – FEQUI - UFU

Membro

Patos de Minas/MG, 11 de junho de 2021.

AGRADECIMENTOS

Passei dias pensando em como escrever este tópico pois não consigo demonstrar em palavras tamanha a gratidão que tenho pelos conhecidos, amigos e familiares que me acompanharam durante toda a trajetória acadêmica.

Inicialmente agradeço a minha família, especialmente a minha mãe, Luzmar Melo, e irmãos, Diego Melo e Max Melo. Seguimos nessa vida em uma longa jornada, cheia de altos e baixos, mas sei que independente da situação vocês sempre estarão lá, segurando minha mão e dando todo o amor e carinho. Aliás, vocês me ensinaram o que é o amor, ensinaram o que é cuidar e ser cuidado, ensinaram que nada está acima da ética e do bom coração. Espero que eu possa retribuir tudo o que fizeram por mim.

Em seguida agradeço ao meu orientador, Gilvan Caetano Duarte, um dos professores e pesquisadores mais incríveis que tive o prazer de conhecer. Extremamente atencioso, didático, paciente e inteligente, sempre com muita serenidade e um sorriso no rosto. Obrigado também aos membros da banca, Aulus Estevão Anjos de Deus Barbosa, Paula Marcela Duque Jaramillo e Líbia Diniz Santos, por terem aceitado o convite e participar de um momento tão especial em minha trajetória.

Agradeço também a todo corpo docente e técnico da UFU, que contribuíram para o profissional que sou hoje. Obrigado às lideranças estudantis, ao Diretório Acadêmico, a Empresa Júnior e a Lina Biotec. Participar delas me transformou de uma forma indescritível.

A universidade me trouxe muitas pessoas especiais, amigos que levarei para toda a vida. Um obrigado especial para o Ailton Pereira, Beatriz Vargas, Erica Soares e Felipe Belagamba, os melhores companheiros que poderia ter. Vou guardar comigo cada abraço, cada conversa e cada puxão de orelha que me deram.

Pessoas externas também me acompanharam. Sou extremamente grato ao Danilo Lima, por ter me impulsionado e dado forças para não desistir, sempre atencioso e ajudando em momentos difíceis. À Dayane Sousa, por ter se disposto a auxiliar em diversas dúvidas que tive no caminho. À Vanilda, que me acolheu com tanto carinho na Secretaria de Saúde.

Claro, não poderia deixar de agradecer aos meus melhores amigos, ao grupo que se conheceu ao acaso e a vida nos uniu até hoje, Obrigado Tauane Ribeiro e Fabrício Longo, espero que o futuro de vocês seja sólido e regado de amor.

Por fim agradeço a Deus, aos guardiões, guias e entidades que me acompanham desde que nasci. A fé é volátil e inconstante, oscilando entre crer e não crer, mas acredito que se vocês existem, estão aqui me auxiliando no caminho à evolução.

Enfim, lembrem-se pessoal, essa vitória não é só minha, mas de todos nós.

RESUMO

A pectina é um heteropolissacarídeo formado, principalmente, por resíduos de ácido D-galacturônico, presente nas paredes celulares vegetais. Tem caráter espessante e estrutural, e sua presença pode resultar em características negativas em produtos de interesse. A produção de enzimas por cultivo microbiológico, seja submerso ou em estado sólido, também constitui importante “ferramenta biotecnológica”, capaz de reduzir a emissão de resíduos poluentes e agregar valor a certos produtos, comumente referidos com biomassa residual. Dentre os microrganismos mais utilizados como produtores de pectinases interessantes à biotecnologia, destacam-se os fungos filamentosos, capazes de produzir elevados títulos de concentrações proteicas. Enzimas específicas são capazes de solucionar os problemas causados pela pectina em diversas modalidades da indústria. Para isso são utilizadas as pectinases, biocatalizadores capazes de desesterificar ou hidrolisar o substrato citado, proporcionando vantagem industrial. Neste trabalho buscou-se enfatizar resultados positivos alcançados em etapas industriais, por meio da utilização de pectinases, como “ferramentas biotecnológicas”, como por exemplo, na extração de sucos e óleos, manipulação da turbidez em bebidas, branqueamento de papel, tratamento de fibras têxteis, e liberação de compostos vantajosos à saúde humana.

Palavras chave: Pectina. Pectinase. Enzimas. Resíduos Agroindustriais.

ABSTRACT

Pectin is a heteropolysaccharide structured mainly from residues of D-galacturonic acid, originated in walls of vegetal cells. It has thickener and structurer capacities, and its presence could result in negative characteristics in interest products. The production of enzymes by microbiologic cultivation (submerged or solid) also constitutes an important “biological tool”, able to reduce the emission of pollutants and to aggregate value to certain products, commonly referred as residual biomass. Among the microorganisms most used as producers of pectinases with interest to the biotechnology stands out the filamentous fungi, able to produce high levels of protein concentration. Specific enzymes, used in many industrial applications, have the capacity to solve problems caused by pectin. Pectinases are used to induce these capacities, because their action as biocatalyst is able to digest or hydrolyze the referred substrate, providing industrial advantages. This work seeks to emphasize positive results reached in industrial stages, by the use of pectinases as biological tools, for example, in the extraction of juices and oils, dealing with turbidity in beverages, bleaching paper, treating textile fibers, and releasing compounds beneficial to human health.

Keywords: Pectin. Pectinase. Enzymes. Agro-industrial residues.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AceA – Ácido acérico.

Api – Apiose.

Ara – Arabinose.

D-GalA – Ácido galacturônico dextrogiro.

Dha – Ácido deoxi-lixoheptulo piranosilárico.

Fuc – Fucose.

FSm – Fermentação Submersa.

FES – Fermentação em Estado Sólido.

Gal – Galactose.

GalA – Ácido galacturônico.

kDa – Kilodalton.

KDO – Ácido cetodeoximano-octulopiranosilônico.

L-Rha – Ramnose levogira.

PG – Poligalacturonases.

PGL – Poligalacturanato Liases.

PMG – Polimetilgalacturonases.

PMGE – Polimetilgalacturanato Esterase.

PMGL – Polimetilgalacturanato Liases.

Rha – Ramnose.

Xyl – Xilose.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Exemplos de microrganismos produtores de pectinase.

Tabela 2 – Produção de enzimas por fonte microbiana.

Tabela 3 – Principais aplicações de pectinases no segmento industrial.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Esquema dos principais componentes da parede celular vegetal.

Figura 2 – Representação esquemática da estrutura de pectinas.

Figura 3 – Ação da Polimetilgacturanato Esterase (PMGE) sobre pectina.

Figura 4 – Hidrólise ácida catalisada pelas enzimas Polimetilgalacturonase (PMG) e Poligalacturonases (PG).

Figura 5 – Reação de β -eliminação catalisada pela Polimetilgalacturonato Liase (PMGL) e Poligalacturonato Liase (PGL).

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 METODOLOGIA	11
3 DESENVOLVIMENTO	12
3.1 Pectina	12
3.2 Resíduos agroindustriais como fonte biotecnológica de enzimas	14
3.2.1 Fungos como produtores enzimáticos	15
3.2.2 Métodos de produção enzimática	15
3.2.3 Atuações sinérgicas	16
3.3 Pectinase	17
3.4 Principais aplicações das enzimas pectinases na indústria	19
3.4.1 – Processamento de sucos, frutas e vegetais	20
3.4.2 Indústria de vinhos	21
3.4.3 Extração de óleos vegetais	21
3.4.4 Fermentação de café	22
3.4.5 Indústria têxtil	22
3.4.6 Celulose e papel	23
3.4.7 Alimentos Funcionais	23
4 CONCLUSÃO	23

1 INTRODUÇÃO

A cada ano, toneladas de resíduos agroindustriais são descartados no meio ambiente sem o devido tratamento. Por serem ricos em material lignocelulósico, a fermentação para produção de enzimas é uma alternativa de tratamento viável, visto que diversos microrganismos são capazes de realizar este processo. Dessa forma, é possível reduzir a poluição e gerar um produto de alto valor agregado, as enzimas (SÁNCHEZ, 2009).

Enzimas são biocatalizadores que realizam reações químicas que não ocorreriam espontaneamente em condições normais de temperatura e pressão. Seu método de atuação é através da diminuição da energia de ativação necessária para que uma determinada reação química aconteça (LIMA, 2015). Há uma enorme diversidade de enzimas que realizam as mais diversas funções, dentre elas estão as pectinases, um grupo de biomoléculas responsáveis por catalisar reações de desesterificação, hidrólise e β -eliminação da pectina (KEKOS et al., 2008).

A pectina está localizada na parede celular e lamela média de vegetais superiores. Seu caráter espessante e estrutural dificulta processos de extração de componentes em vegetais, que acabam permanecendo nos resíduos e não sendo aproveitados. Portanto, a degradação da pectina, pelas pectinases, torna-se economicamente atrativa em processos industriais, como extração de sucos e óleos, manipulação da turbidez em bebidas, branqueamento de papel, tratamento de fibras têxteis, e liberação de compostos vantajosos à saúde humana., uma vez que estas enzimas aumentam a eficiência da produção e agregam propriedades organolépticas e nutricionais ao produto final (PAIVA et al., 2009; SANTI et al., 2014; COSTA 2019).

Este trabalho tem como objetivo reunir informações sobre métodos de produção e os principais microrganismos produtores de pectinases, bem como enfatizar aplicações relevantes que impulsionam a utilização destas extraordinárias “ferramentas biotecnológicas”.

2 METODOLOGIA

O presente trabalho representa uma revisão sobre o tema proposto, por meio de pesquisa bibliográfica realizada em artigos científicos, dissertações e teses disponíveis nas bases de dados online/portais de pesquisa: Scientific Eletronic Library Online - Scielo (<https://www.scielo.br/>), Science Direct (<https://www.sciencedirect.com/>) e Google Acadêmico (<https://scholar.google.com.br/?hl=pt>), utilizando palavras-chave relacionadas ao tema, como “pectin”, “pectinase”, “enzyme production”, “agro-industrial residues”. Em alguns momentos se

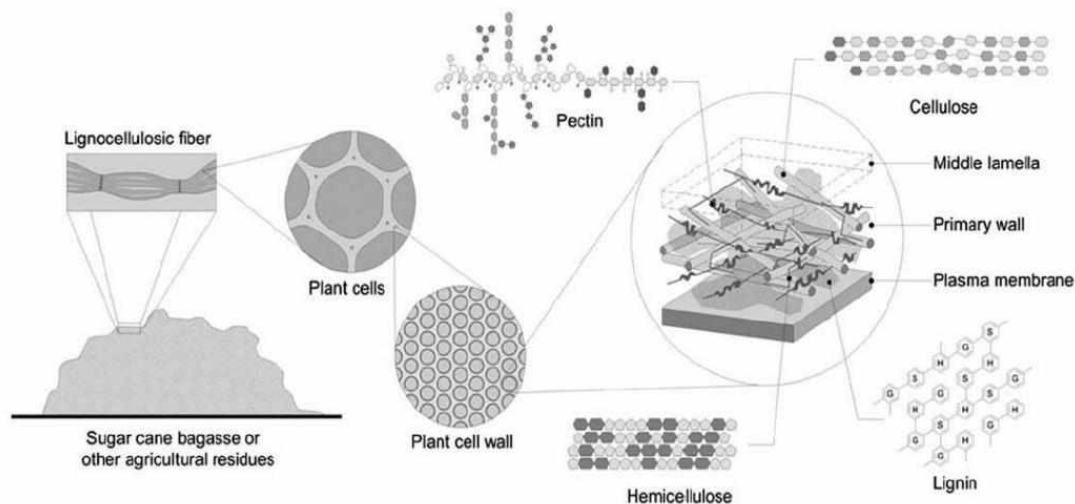
fez necessária a pesquisa de artigos e demais trabalhos especificamente nacionais para abordagem do assunto, portanto utilizou-se de termos traduzidos para o idioma em questão. Ademais, não se estabeleceu um período e idioma específico, buscando as informações importantes mais recentes disponíveis.

3 DESENVOLVIMENTO

3.1 Pectina

A pectina trata-se de uma combinação de macromoléculas presente na lamela média e na parede celular primária de células de vegetais superiores¹ (**Figura 1**). A substância pectica é composta principalmente por cadeias lineares de ácido D-galacturônico interagindo por ligações glicosídicas do tipo $\alpha(1\rightarrow4)$. A sequência linear de ácido D-galacturônico pode conter ainda, grupos metil e acetil, bem como demais açúcares D-apiose, L-arabinose, L-ramnose, D-fucose, D-galactose, D-xilose e alguns ácidos específicos pouco comuns neste tipo de molécula (**Figura 2**) (CANTERI et al., 2012).

Figura 1 - Esquema dos principais componentes da parede celular vegetal.



Fonte: Adaptado de Siqueira e Filho (2010).

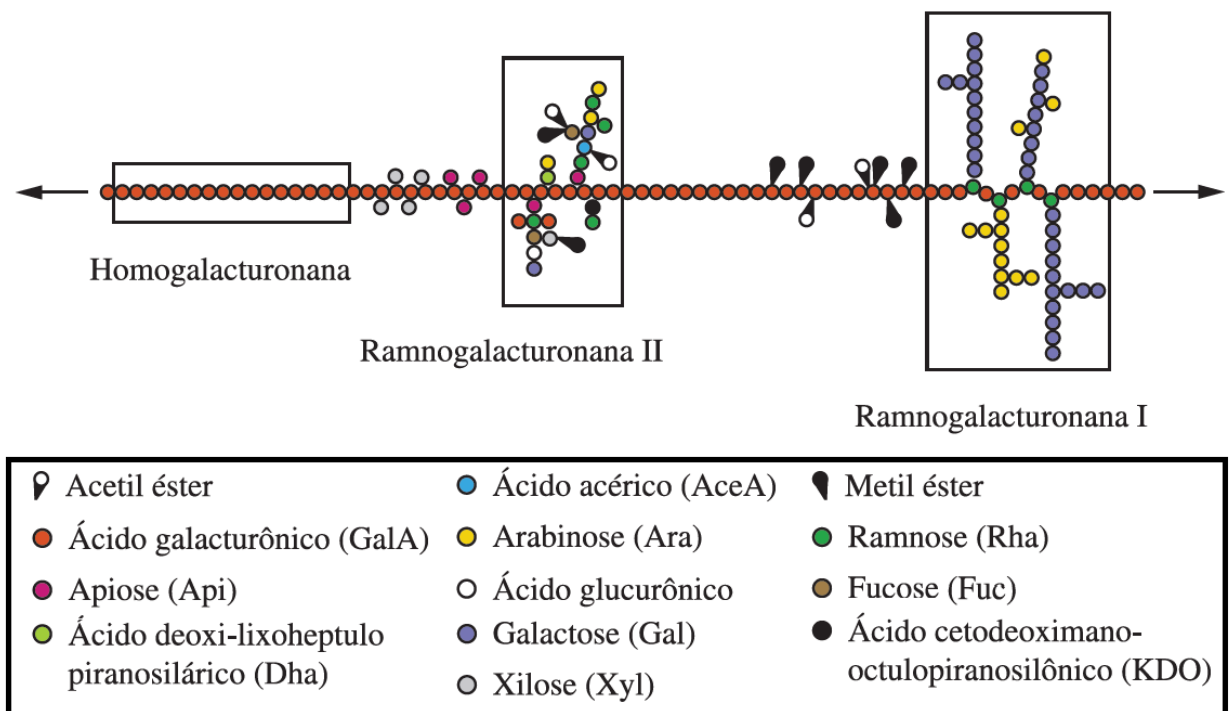
Essa macromolécula possui função estrutural, controle de porosidade para acesso de moléculas exógenas e garante resistência e aderência entre as células vegetais. Quando encontrada

¹ Os vegetais superiores são aqueles que produzem flores e chamados de fanerógamos, sendo divididos entre dois grupos: angiospermas (milho, arroz, feijão) e gimnospermas (pinheiros).

na parede celular primária, a pectina possui cadeias altamente ramificadas com longas sequências contendo os resíduos de L-arabinose e D-galactose. Já na lamela média, as cadeias tendem a ser mais curtas e menos ramificadas, porém a sequência de ácido D-galacturônico da linha principal está com alto grau de esterificação (PAIVA et al., 2009; COSTA 2019).

Por tratar-se de um polissacarídeo, sua formação permite cadeias de tamanhos variados, ou seja, as pectinas não possuem um peso molecular previamente estabelecido, e dependendo de sua fonte pode variar de 25 a 360 kDa (SAKAI et al., 1993). Além disso, a combinação entre os monossacarídeos presente nesta molécula é diversa, o que dificulta a elaboração de um esquema estrutural único (VORAGEM et al., 2009). Willats et al., (2006) demonstraram em uma representação convencional os três agrupamentos distintos mais comuns na pectina, sendo eles, a homogalacturonana, a ramnogalacturonana I e, por fim, a ramnogalacturonana II (**Figura 2**).

Figura 2 - Representação esquemática da estrutura de pectinas.



Fonte: Adaptado de Willats et al., (2006).

Sendo uma sequência linear simples de ácido galacturônico unidos por ligações $\alpha(1 \rightarrow 4)$, a homogalacturonana é a variação mais abundante nas pectinas. Estima-se que pode ocupar valores de 60 a 65% de todo o polissacarídeo. Existe uma variação dessa estrutura, nomeada de xilogalacturonana, onde resíduos de xilose são ligados ao longo do polissacarídeo. Esta variedade é predominantemente encontrada em tecidos reprodutivos, como frutas e sementes (VORAGEM et al., 2009).

A ramnogalacturonana I é a combinação entre ácido galacturônico dextrogiro (D-GalA) e ramnose levogira (L-Rha), unidas por ligações $\alpha(1\rightarrow2)$. Esta interação possibilita a adição de novas cadeias de glucanas ligadas à ramnose. A arabinose e galactose são as mais comuns, porém outras sequências de GalA podem ser observadas. Em proporção menor, estima-se que este agrupamento está presente em cerca de 20 a 35% do polissacarídeo (VORAGEM et al., 2009; ATMODOJO et al., 2013).

Por fim, a ramnogalacturonana II é a variação mais complexa e menos presente na pectina, ocupando 10% de toda a composição. Nela há a presença de açúcares pouco comuns, como a apiose e os ácidos deoxi-lixoheptulo piranosídico (Dha) e cetodeoximano-octulopiranosilônico (KDO). Além disso, há quatro estruturas secundárias ligadas a cadeia galacturônica, sendo dois dissacarídeos, um octassacarídeo e um nonassacarídeo, podendo conter ou não grupos metil e acetil éster como observado na **Figura 2** (VORAGEM et al., 2009; ATMODOJO et al., 2013). Por fim, apesar de sua complexidade, esta combinação apresenta maior estabilidade quando comparada a ramnogalacturonana do tipo I (SEYFRIED et al., 2016).

A pectina, quando aplicada no processamento de alimentos, possui caráter estabilizante e espessante, além da capacidade de retenção de aroma e sabor (GANCZ et al., 2006). São encontradas de forma mais abundante no mesocarpo de frutos cítricos, devido a isso, estas são as matérias prima mais utilizadas para produção em nível industrial (PAIVA et al., 2009). No entanto, apesar das diversas aplicações positivas, a pectina também pode estar atrelada a características negativas dependendo de onde for encontrada, para isso uma das soluções aplicadas é a utilização da enzima pectinase, que será discutida posteriormente.

3.2 Resíduos agroindustriais como fonte biotecnológica de enzimas

Com o passar do tempo, as safras agrícolas no Brasil resultam na produção de uma grande quantidade de resíduos, principalmente uma biomassa rica em material lignocelulósico (BOMTEMPO et al., 2017). Também estima-se que ao longo da cadeia de produção alimentar mundial, aproximadamente um terço dos alimentos são transformados em resíduos e descartados de forma incorreta e nociva ao meio ambiente (CHAMPAGNE, 2008). Devido a isso, se fez necessário alternativas que solucionem o problema.

Por serem ricos em celulose, hemicelulose e pectina, a produção enzimática utilizando resíduos agroindustriais é uma realidade, visto que há uma grande diversidade de microrganismos capazes de utilizar destes compostos como fonte de nutrientes. Dentre eles, os fungos filamentosos

se destacam comercialmente, pois são capazes de secretar altos títulos de proteínas. (SÁNCHEZ, 2009).

3.2.1 Fungos como produtores enzimáticos

A forma de nutrição dos microrganismos fúngicos é através da digestão extracelular, a qual consiste em secretar biomoléculas enzimáticas capazes de degradar o alimento, disponibilizando nutrientes no meio para que então sejam absorvidos (RAMOS 2012; TORTORA et al., 2005). Esta capacidade de metabolização externa em conjunto com a facilidade de cultivo é o que torna os fungos filamentosos os mais interessantes para esta área biotecnológica (GUIMARAES et al., 2006).

O reino Fungi trata-se de um dos grupos de seres vivos mais diversos existentes, ocupando praticamente todos os habitats do planeta. Dentro de toda essa biodiversidade, inúmeros microrganismos ainda não tiveram seu potencial estudado (AZEVEDO e BARATA, 2018). Apesar disso, quando analisada a produção de enzimas pectinolíticas, assim como outros subprodutos enzimáticos, algumas espécies específicas se destacam, como demonstradas na **Tabela 1**.

Tabela 1 – Exemplos de microrganismos produtores de pectinases citados por autores brasileiros.

Microrganismo	Referência
<i>Agaricus brasilienses</i>	Siqueira et al., (2010)
<i>Aspergillus flavus</i>	Siqueira et al., (2010)
<i>Aspergillus japonicus</i>	Olarte et al., (2019)
<i>Aspergillus niger</i>	Diversos autores.
<i>Aspergillus niveus</i>	Maller et al., (2012)
<i>Penicillium glandicola</i>	Bezerra et al., (2012)
<i>Penicillium viridicatum</i>	Ferreira et al., (2010)
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Siqueira et al., (2010)
<i>Thermoascus aurorantiacus</i>	Martins et al., (2007)

Fonte: Próprio autor.

3.2.2 Métodos de produção enzimática

Temperatura, composição do meio, atividade de água, pH, concentração de inóculo, inibição por competição, e demais aspectos são avaliados para garantir uma bioprodução de excelência. Todos os fatores citados alteram sistematicamente a produção e a atividade das enzimas em um meio de cultura. Um ambiente termicamente constante, por exemplo, é mais eficiente quando comparado a um sistema descontrolado. O mesmo vale para as outras medidas. Cada microrganismo, enzima e substrato possuem condições ideais específicas para atuação, e este é um dos grandes desafios da ciência nesta área (RIBEIRO et al., 2019; RIGO et al., 2021).

Duas categorias de método fermentativo são utilizadas para a produção de enzimas por microrganismos, cada uma com sua especificidade.

A primeira delas é a fermentação submersa (FSm), através da qual os microrganismos são inseridos em um meio de cultura líquido contendo pH e temperatura controlados, além de uma constante homogeneização. Este método possui vantagens devido ao maior poder de controle sobre as condições de cultivo, além da melhor acessibilidade da enzima ao substrato visto sua disposição no meio (MUSATTI et al., 2017).

Diferente do primeiro, o segundo método trata-se da fermentação em estado sólido (FES), o qual o crescimento microbiano é estimulado em um ou mais substratos secos, com pouca ou sem nenhuma presença de água livre, tendo o necessário para atender as demandas metabólicas do microrganismo. Apesar das diversas combinação de fontes de nutrientes, que garantem a produção diversificada de enzimas, a distribuição heterogênea do microrganismo e o baixo poder de controle do meio trazem dificuldades para o processo. No entanto este tipo de fermentação produz um menor volume de efluentes e oferece condições semelhantes ao habitat do microrganismo fúngico, onde se encontra mais adaptado e, conseqüentemente, mais produtivo (RODRIGUES et al., 2020).

3.2.3 Atuações sinérgicas

As possibilidades de combinações entre microrganismo, substrato e método de produção são enormes. Devido a isso, inúmeros estudos são feitos anualmente para caracterizar as melhores condições, afim de reduzir o dano ambiental gerado por esses resíduos e potencializar a produção enzimática. A **Tabela 2** exemplifica alguns trabalhos brasileiros feitos com este objetivo.

Tabela 2 – Produção de enzima por fonte microbiana.

Microrganismo produtor	Fonte de substrato	Método de produção	Estado	Referências
-------------------------------	---------------------------	---------------------------	---------------	--------------------

<i>Aspergillus japonicus</i>	Farelo de trigo	FSm	Mato Grosso do Sul	Olarte et al. (2019)
<i>Aspergillus niger</i> CCT 0916	Bagaço de laranja	FES	Ceará	Medeiros et al. (2015)
<i>Aspergillus niger</i> ATCC 9642	Resíduos de arroz e feno	FES	Rio grande do Sul	Teixeira et al. (2019)
<i>Aspergillus</i> spp. LEMI 15	Casca de café e manipueira	FES	Bahia	Rêgo et al. (2019)
<i>Bacillus</i> sp.	Bagaço de cajá	FES	Paraíba	Andrade et al. (2018)

Fonte: Próprio autor.

3.3 Pectinase

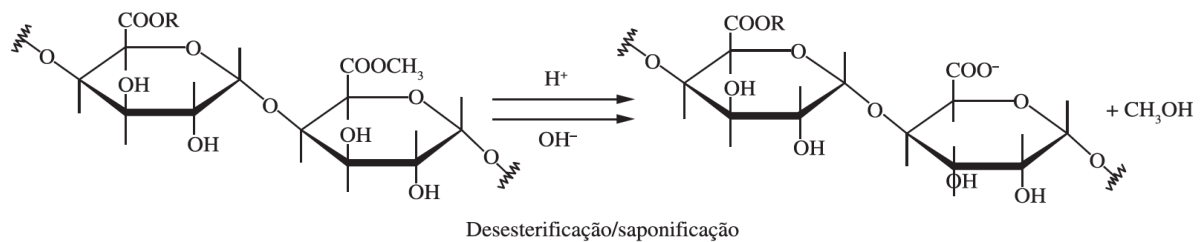
A grande classe de enzimas referidas genericamente com pectinases, constituem biocatalisadores capazes de clivar moléculas de pectina, desfazendo as ligações $\alpha(1\rightarrow4)$, que unem prioritariamente resíduos de Ácido-D-galacturônico, reduzindo o tamanho molecular deste polissacarídeo. Sua fonte é variada, sendo produzida em diferentes microrganismos fúngicos e bacterianos (KEKOS et al., 2008).

Existem diversas variações da enzima que, apesar da mesma função, possuem formas de ação diferentes, sendo classificadas de acordo com o ataque ao esqueleto galacturônico, em esterases, despolimerases e protopectinases. Seu mecanismo também é classificado como endo- e exo-, por meio da ação em locais aleatórios da sequência ou a partir do final da cadeia, respectivamente (UENOJO e PASTORE, 2007).

É importante expor inicialmente o mecanismo de desesterificação relacionado a enzima Polimetilgalacturanato Esterase (PMGE), nomeada por pectina esterase, pois as hidrolases e liases também podem atuar no produto gerado por ela (SAKAI et al., 1993). Esta enzima específica é responsável por catalisar a hidrólise dos grupos metil éster da pectina, quebrando as moléculas de água, adicionando um hidrogênio a um carbono da ligação e o grupo hidroxila a outro carbono, tendo como produtos, pectato² e metanol (MARCON, 2012). A **Figura 3** expõe a alteração estrutural causada pela desesterificação.

² Pectina com baixo ou nenhuma esterificação.

Figura 3 - Ação da Polimetilgalacturanato Esterase (PMGE) sobre a pectina.

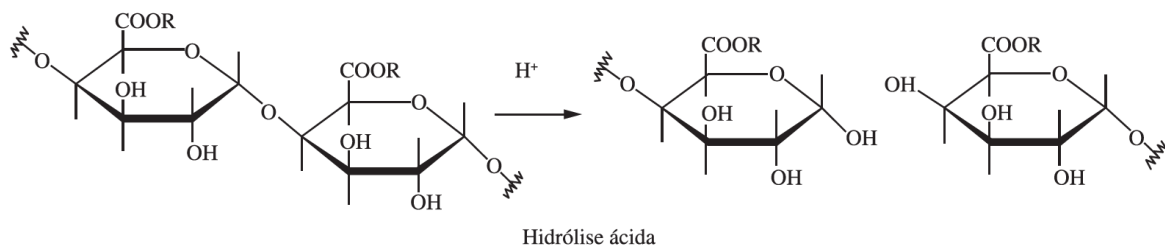


Fonte: Adaptado de Canteri et al., (2012).

Com uma reação distinta da esterase, as despolicimerases atuam nas ligações entre as moléculas da cadeia e são subdivididas em dois grupos: hidrolases e liases.

As hidrolases incluem as Polimetilgalacturonases (PMG) e as Poligalacturonases (PG), a primeira atuando na pectina esterificada e a segunda no pectato, produto do PMGE. Ambas clivam a ligação glicosídica $\alpha(1\rightarrow4)$ dos respectivos polissacarídeos, além de serem subdivididas em – endo- e exo-, podendo hidrolisar também pontos randômicos (endo-PMG e endo-PG) ou extremidades da cadeia (exo-PMG e exo-PG) (**Figura 4**).

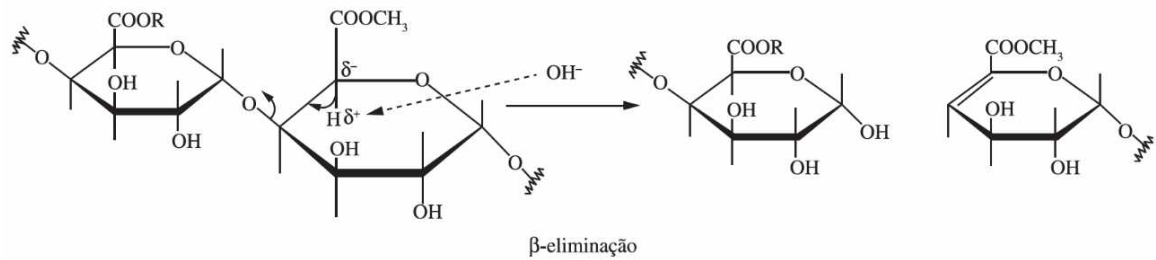
Figura 4 - Hidrólise ácida catalisada pelas enzimas Polimetilgalacturonase (PMG) e Poligalacturonases (PG)



Fonte: Adaptado de Canteri et al., (2012).

Já as liases, também nomeadas de transeliminases, incluem as Polimetilgalacturanato Liasas (PMGL) e as Poligalacturanato Liasas (PGL), ambas resultando em um produto contendo ligações saturadas e atuando de forma endo- e exo-. A PMGL catalisa a reação de β -eliminação entre dois açúcares da sequência (**Figura 5**), quebrando as ligações por transeliminação do hidrogênio ligados aos carbonos 4 e 5 da porção aglicona da pectina (SANTOS, 2007). No caso da PGL, a catalização ocorre na clivagem da ligação $\alpha(1\rightarrow4)$ do pectato, no entanto faz-se necessário a presença de Ca^{2+} no meio para que a reação ocorra.

Figura 5 - Reação de β -eliminação catalisada pela Polimetilgalacturonato Liase (PMGL) e Poligalacturonato Liase (PGL)



Fonte: Adaptado de Canteri et al., (2012).

Por fim, as Protopectinases são responsáveis por degradar a protopectina insolúvel, gerando a pectina polimerizada altamente solúvel (KAYSHAP et al., 2001). Ressalta-se que até o final do século XX, as protopectinases possuíam pouco uso industrial em relação a degradação da pectina, e ainda não eram encontradas com tanta facilidade (ALKORTA et al., 1998).

3.4 Principais aplicações das enzimas pectinases na indústria

Devido à alta concentração de material pectínico nos vegetais, as pectinases possuem um amplo espectro de aplicações industriais, podendo variar de áreas como saúde, tratamento de resíduos, têxtil e, principalmente, alimentícia. O processamento biotecnológico de frutas e vegetais já é estudado desde o século XX, quando a indústria de sucos foi criada e tornou-se popular (UENOJO e PASTORE, 2007). Estima-se que no início da década de 1990, a área alimentícia representava 62% das aplicações enzimáticas, e 80% do mercado total utilizava de moléculas hidrolisantes (DZIEZAK, 1991). Na **Tabela 3** são apresentadas as principais aplicações das pectinases no setor industrial.

Tabela 3 – Principais aplicações de pectinases no segmento industrial.

Indústria	Aplicação
Sucos e vinhos	Melhoria na extração do suco, clarificação, controle da pigmentação, liberação de compostos de interesse.
Alimentos	Produção de polpas de frutas, liberação de aroma, compostos probiótico.
Óleos	Melhoria na extração de óleos.

Café	Melhoria na fermentação.
Têxtil	Tratamento de fibras.
Papel	Branqueamento.

Fonte: Adaptações de Santi et al. (2014).

3.4.1 – Processamento de sucos, frutas e vegetais

Frutas, verduras, assim como outros vegetais, possuem uma parede celular e lamela média ricas em pectina, celulose, hemicelulose e lignina, como mostrado na **Figura 1**. Devido a isso, enzimas que degradam este tipo de macromolécula tem alta aplicabilidade, principalmente se atuarem sinergicamente, favorecendo o rendimento, tratamento e qualidade final do produto (SILVA et al., 1997).

As proporções destes polissacarídeos variam de uma espécie para outra, o que consequentemente influencia as concentrações das enzimas necessárias durante o processamento. Também é preciso atentar ao objetivo da reação. Baumann (1981) observou que para aumentar o rendimento de uma extração, todas as espécies enzimáticas citadas são importantes. Porém, se o objetivo é reduzir parcialmente a viscosidade do produto, a adição de PMGE resultará na maior clivagem da pectina, diminuindo excessivamente a viscosidade e provocando floculações caso o meio apresente Ca^{2+} .

Algumas frutas possuem o teor de pectina mais elevado, tornando o meio mais espesso e dificultando a obtenção do suco. Um biocatalizador específico é capaz de solucionar este problema, melhorando as características nutritivas, organolépticas e tecnológicas, além de aumentar o rendimento em mais de 90% se comparado a extração convencional (SILVA et al., 1997). Com esta tecnologia é possível liquefazer o extrato de fruta parcial ou totalmente, garantindo que a filtração e concentração sejam aplicados mais facilmente e em menor tempo (BHAT, 2000).

A despectinização enzimática também é essencial para produção de poupas de fruta, visto que aumentar a concentração do suco acarreta em sua gelificação e impede que o mesmo seja diluído posteriormente (UENOJO e PASTORE, 2007).

A turbidez de sucos ocorre devido a concentração de componentes em suspensão. Devido a isso, o processo de clarificação torna imprescindível para garantir estabilidade e uniformidade no produto. Uma das primeiras matérias-primas a utilizarem desse processo é a maçã, conforme aponta Endo (1965). Porém, diversas outras frutas ricas em pectina também são descritas, como a acerola, o maracujá, a laranja e o caju.

A clarificação ocorre em três fases principais. Primeiramente são aplicadas enzimas pécnicas afim reduzir a viscosidade e liberar macromoléculas que interferem na turbidez. A segunda fase é caracterizada pela agregação dos polifenóis liberados no meio, sendo atraídos por sua polaridade. Por fim, na terceira fase, ocorre a precipitação destas moléculas aglomeradas, que são filtradas e retiradas do produto final (SILVA et al., 1997).

Autores como Endo (1965), Baker (1972), Wosiacki (1992), Anstalden (1994) e Faria et al., (1994) mostraram que a atuação da PMGE em conjunto com PG é mais eficiente. Isso se dá por conta do alto grau de esterificação das moléculas de pectina em frutas, a qual PG não consegue atuar sozinha.

3.4.2 Indústria de vinhos

Na vinificação, as pectinases possuem sua importância devido a obtenção de vinhos de alta qualidade, gerando produtos de alto valor agregado. Isso ocorre em razão do uso das pectinases em diversas etapas da produção do vinho. O coquetel enzimático contendo essa macromolécula é usado durante o processo de esmagamento e mosto, contribuindo para melhorar a extração, aumentar a concentração de terpenos e compostos fenólicos, e retificar características visuais como cor e turbidez. Esta aplicação ocorre em ambos os tipos de vinhos (tinto e branco). Além disso, quando usada na produção do vinho o tempo de clarificação é reduzido (JAYANI et al., 2005; SANTI et al., 2014).

Em contrapartida, a alta produção de compostos fenólicos gerado pela pectinase pode acarretar em características indesejáveis. Isso ocorre devido a produção de ácido cinâmico por enzimas que reagem com estes subprodutos, sendo metabolizada por *Saccharomyces cerevisiae* durante a fermentação. Este fenômeno prejudica o sabor do produto final (SILVA et al., 1997).

3.4.3 Extração de óleos vegetais

O coquetel enzimático quando formado pela combinação de pectinases e celulasas possui aplicação biotecnológica para extração de óleos em diversas variedades vegetais, como por exemplo: soja, canola, palma, oliva, coco, dendê, babaçu, além dos produzidos por semente girassol e de abóbora. A extração de biocomponentes (vitamina E e agentes antioxidantes), assim como do próprio óleo vegetal são ampliados com a adição do processo enzimático (BHAT, 2000). Isso leva ao entendimento de que o uso de pectinase ajuda a reduzir perdas durante a extração do

óleo porque as enzimas degradam partes específicas da parede celular vegetal, liberando compostos ligados a ela.

A utilização de enzimas durante a maceração de azeitonas para produção do óleo de oliva extra virgem confere diversas características vantajosas, aumentando a extração em processamento a frio, diminuindo o ranço, melhorando a centrifugação e reduzindo o teor de óleos nas águas residuais. Da mesma forma estes ganhos podem ser obtidos em outras variedades do produto (BHAT, 2000).

3.4.4 Fermentação de café

O uso das pectinases contribui no processo de fermentação de chá e café, acelerando a produção e aumentando a qualidade do produto final. Estas atuam na remoção da camada de mucilagem do grão, etapa importante na produção do café. No entanto, devido a questões econômicas, o uso de coquetéis enzimáticos comerciais nesta área não é muito aplicado. A produção em larga escala aumenta os custos. Desta forma, o mecanismo comumente utilizado é a produção de enzimas pécticas por fermentação de resíduos do próprio café (UENOJO e PASTORE, 2007).

3.4.5 Indústria têxtil

Conferir aderência entre as células vegetais é “papel” da pectina. A liberação de fibras de celulose utilizando enzimas trás aplicações no processamento de fibras têxteis brutas, maceração do linho e remoção de impurezas.

Um dos procedimentos realizados para remoção de impurezas das fibras é a purga, que utiliza de reagentes químicos, altas temperaturas, pHs elevados e tratamento posterior com reagentes auxiliares (EINSCHLAG, 2011). Para obter um caráter ambiental mais amistoso e resultados superiores, desenvolveu-se a biopurga, que se utiliza de enzimas para retirada de material não celulósico das fibras vegetais. Este método trata o tecido em pH neutro e temperaturas abaixo do convencional (SILVA, 2013).

Um coquetel enzimático contendo pectinases juntamente com amilases, lipases e hemicelulases também é capaz de substituir reagentes químicos no tratamento de algodão cru, gerando um produto de alta qualidade e com menor custo de energia na tecelagem (SAWADA e UEDA, 2001).

3.4.6 Celulose e papel

Apesar da utilização de outros complexos enzimáticos serem mais evidentes no tratamento da celulose, a pectinase possui ação importante quando associado ao branqueamento de papel. Isso se dá devido a degradação de polissacarídeos que interferem no processo de clareamento. A cadeia de ácido D-galacturônico se complexa com polímeros catiônicos, o que conseqüentemente aumenta a demanda catiônica. No entanto, esta habilidade depende do grau de polimerização deste polissacarídeo. A aplicação de pectinases diminui esta demanda, reduzindo o filtrado do branqueamento com peróxido (REID e RICARD, 2000; REID e RICARD, 2004).

3.4.7 Alimentos Funcionais

A ingestão de pectinas, pectinases e, conseqüentemente, seus produtos, desempenha funções auxiliares ao organismo humano. Destaca-se que parte deste grupo de moléculas não são degradados na região superior do trato gastrointestinal, isto, junto a dispersão de moléculas vantajosas para a microbiota intestinal, confere a classificação de “probiótico” (KHAN et al., 2013).

A capacidade de gelificação da pectina confere o aumento da viscosidade do trato intestinal, aumentando a adesão de colesterol e ácidos biliares ao bolo alimentar, diminuindo a absorção destes componentes pelo corpo. Quando desmetilada em pectato sua viscosidade é alterada, melhorando a eficiência deste processo, para isso é possível utilizar a enzima PMGE juntamente com átomos de Ca^{2+} (KHAN et al., 2013).

Bactérias intestinais fermentam as pectinas desmetiladas (pectato) mais rapidamente, formando como produtos o acetato, propionato, ácido butanoico e ácidos graxos de cadeia curta. A absorção destes componentes pelo organismo humano protege o intestino contra doenças inflamatórias e regulam a liberação de hormônios intestinais que controlam o apetite e a secreção de insulina (TOLHURST et al. 2012).

4 CONCLUSÃO

Foi possível observar a amplitude do espectro de aplicações desta enzima. Sua produção é uma ferramenta biotecnológica poderosa capaz de tratar resíduos agroindustriais, gerar produtos de alto valor agregado e, conseqüentemente, despertar interesse tanto da indústria quanto do meio ambiente.

Um grande desafio na ciência é determinar a combinação ideal entre microrganismo, substrato e condições do meio. Diversos trabalhos surgem anualmente em inúmeros polos mundiais, incluindo também uma variedade de regiões brasileiras em que essas pesquisas são feitas.

Apesar de outras áreas, a indústria de alimentos é a mais evidente quanto a aplicação de pectinases. O aumento na extração de compostos de interesse como óleos e extratos de fruta, clareamento e maior controle da viscosidade formam produtos mais interessantes e atrativos ao consumidor.

Por fim, a biotecnologia pode ser aplicada para além da utilização de enzimas. Métodos de engenharia genética são capazes de sequenciar e modificar geneticamente microrganismos para que desempenhem funções de interesse, como maior eficiência na produção enzimática e menor consumo de energia, por exemplo.

REFERÊNCIAS

ALKORTA, I.; GARBISU, C.; LLAMA, M. J.; SERRA, J. L. Industrial applications of pectic enzymes: a review. *Process Biochemistry*, v. 33, ed. 1, p. 21-28, 1998.

ANDRADE, A. S. A.; NETO, N. J. O.; DIAS, E. C.; GERVÁSIO, D. K. L.; LIMA, M. K. L.; SANTOS, S. F. M.; SOUSA, A. C. B.; ALMEIDA, A. F. Estudo da produção de enzimas pectinolíticas de celulolíticas por fermentação em estado sólido a partir do bagaço de cajá. *Saúde & Ciência*, v. 7, n. 2, p. 457-472, 2018.

ATMODJO, M. A.; HAO, Z.; MOHNEN, D. Evolving Views of Pectin Biosynthesis. *Annual Review of Plant Biology*, v. 64, p. 747-779, 2013.

AZEVEDO, E.; BARATA, M. Diversidade no reino Fungi e aplicações à Indústria. *Ciência Elementar*, v. 6, n. 4, p. 291-297, 2018.

BAKER, R.A., BRUMMER, J.H. Pectinase stabilization of orange juice cloud. *J. Agric. Food Chem.*, v. 20, p. 1169-1173, 1972.

BAUMANN, J. W. Application of Enzymes in Fruit Juice Technology. *Enzymes and Food Processing*, p. 129-147, 1981.

BEZERRA, J. D. P.; SANTOS, M. G. S.; SVEDESE, V. M.; LIMA, D. M. M.; FERNANDES, M. J. S.; PAIVA, L. M.; MOTTA, C. M. S. Richness of endophytic fungi isolated from *Opuntia ficus-indica* Mill. (Cactaceae) and preliminary screening for enzyme production. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 28, p. 1989-1995, 2012.

BHAT, M. K. Cellulases and related enzymes in biotechnology. *Biotechnology Advances*, v. 18, n. 5, p. 355-383, 2000.

BOMTEMPO, F. V. S. et al. Produção de extratos enzimáticos por fungos filamentosos utilizando resíduos agrícolas. *Bioenergia em revista: diálogos*, ano 7, n. 1, p. 26-44, 2017.

CANTERI, M. H. G. et al. Pectina: da Matéria-Prima ao Produto Final. *Polímeros*, São Carlos, v. 22, n. 2, p. 149-157, 2012.

CHAMPAGNE, P. Bioethanol from agricultural waste residues. *Environmental Progress*, v. 27, p. 51-57, 2008.

CHUNDAWAT, S. P. S., et al. Multi-scale visualization and characterization of lignocellulosic plant cell wall deconstruction during thermochemical pretreatment. *Energy Environ. Sci.*, v. 4, p. 973–984, 2011.

COSTA, R. Parede Celular Vegetal. *Ciência Elementar*; v.77, p. 01-06, 2019.

DZIEZAK, J. D. Enzymes: catalyst for food process. *Food Technology*, Chicago, v. 45, n. 1, p. 78-85, jan 1991.

DZIEZAK, J. D. Enzymes: catalyst for food process. *Food Technology*, Chicago, v. 45, n. 1, p. 78-85, jan 1991.

EINSCHLAG, F. S. G. Waste Water – Treatment and Reutilization. InTechOpen, ISBN: 978-953-307-249-4, 2011.

ENDO, A. Studies on pectolytic enzymes of molds part XVI. Mechanism of enzymatic clarification of apple juice. *Agri. Biol. Chem.*, v.28, p.757-64, 1965.

FARIA, J.B., CAVALCA, M.M., FERREIRA, R.C., JANZANTI, N.S. Transformações enzimáticas das substâncias pécticas da manga (*Mangifera indica*) v. Haden no amadurecimento. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, v. 14, p. 189-201, 1994.

FERREIRA, V.; SILVA, R.; SILVA, D.; GOMES, E. Production of Pectate Lyase by *Penicillium viridicatum* RFC3 in Solid-State and Submerged Fermentation. *International Journal of Microbiology*, v. 2010, p. 1-8, 2010.

GANCZ, K.; ALEXANDER, M.; CORREDIG, M. In situ study of flocculation of whey protein-stabilized emulsions caused by addition of high methoxyl pectin. *Food Hydrocolloid*; v.20: p.293-298, 2006.

GOOGLE. Google Acadêmico, 2021. Plataforma digital para busca de artigos científicos: <<https://scholar.google.com.br/?hl=pt>>. Acesso em 2021.

GUIMARÃES, L. H. S.; NOGUEIRA, S. C. P.; MICHELIN, M.; RIZZATTI, A. C. S.; SANDRIM, V. C.; ZANOELO, F. F.; AQUINO, A. C. M. M.; JUNIOR, A. B.; POLIZELI, M. L. T. M. Screening of filamentous fungi for production of enzymes of biotechnological interest. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 37, n. 4, p. 474-480, 2006.

JAYANI, R. S.; SAXENA, S.; GUPTA, R. Microbial pectinolytic enzymes: A review. *Process Biochemistry*, v. 40, n. 9, p. 2931-2944, 2005.

KASHYAP, D. R.; VOHRA, P. K.; CHOPRA, S.; TEWARI, R. Applications of pectinases in the commercial sector: a review. *Bioresource Technology*, v. 77, p. 215-227, 2001.

KEKOS, D.; KALANTZI, S.; MAMMA, D.; CHRISTAKOPOULOS, P. Effect of pectate lyase bioscouring on physical, chemical and lowstress mechanical properties of cotton fabrics. *Bioresource Technology*, v. 99, p. 8185-8192, 2008.

KHAN, M.; NAKKEERAN, E.; KUMAR, S. U. Potential Application of Pectinase in Developing Functional Foods. *Food Sci Technol*, v. 4, p. 21-34, 2013.

LIMA, L. S. Energia de ativação. *Ciência Elementar*, v. 3, n. 2, p. 35, 2015.

MARCON, N. S. Avaliação da atividade enzimática de pectinases em fluidos pressurizados. Orientador: Helen Treichel. 2012. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Departamento de Ciências Agrárias, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, 2012.

MALLER, A.; SILVA, T. M.; DAMÁSIO, A. R. L.; REIS, V. R. A.; JORGE, J. A.; POLIZELI, M. L. T. M. Production of Pectin Lyase by *Aspergillus niveus* under Submerged and Solid State Fermentations Using AgroIndustrial Residues as Carbon Sources. *Journal of Microbiology*, v. 3, p. 29-35, 2012.

MARTINS, E. S.; SILVA, D.; LEITE, R. S. R.; GOMES, E. Purification and characterization of polygalacturonase produced by thermophilic *Thermoascus aurantiacus* CBMAI-756 in submerged fermentation. *Antonie van Leeuwenhoek*, v. 91, p. 291-299, 2007.

MEDEIROS, M. S.; SILVA, F. L. H.; GOMES, J. P.; SANTOS, S. F. M.; ALCÂNTARA, S. R. Caracterização físico-química de resíduo de bagaço de laranja para obtenção de pectinase através do cultivo em estado sólido. XX Simpósio de Hidrólise Enzimática de Biomassa, p. 1-6, 2015.

MUSATTI, A.; FICARA, E.; MAPELLI, C.; SAMBUSITI, C.; ROLLINI, M. Use of solid digestate for lignocellulolytic enzymes production through submerged fungal fermentation. *Journal of Environmental Management*, v. 199, p. 1-6, 2017.

OLARTE, L. C.; ALMEIDA, A. P.; FRANCO, A. N.; GUIMARÃES, N. C. A.; MASUI, D. C.; ZANOELO, F. F.; MARCHETTI, C. R.; GIANNESI, G. C. Purificação e Caracterização da pectinase produzida por *Aspergillus japonicus*. 75ª Reunião Anual da SBPC, p. 1-4, 2019.

PAIVA, E. P.; LIMA, M. S.; PAIXÃO, J. A. Pectina: Propriedades químicas e importância sobre a estrutura da parede celular de frutos durante o processo de maturação. *Revista Iberoamericana de Polímero*; v.10: p.196-211, 2009.

RAMOS, E. H. S. Avaliação da produção de celulasas por fungos filamentosos utilizando bagaço de cana como substrato. Dissertação de Mestrado (Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Fisiologia) - Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco, 2012.

RÊGO, A. P. B.; CUNHA, J. R. B.; SANTOS, R. S.; ASSIS, F. G. V.; LEAL, P. L. Produção de enzimas CMCase e pectinase por processo fermentativo utilizando casca de café suplementada com manipueira como substrato. *Revista Brasileira de Energias Renováveis*, v. 8, n. 1, p. 104-121, 2019.

REID, R.; RICARD, M. Pectinase in papermaking: solving retention problems in mechanical pulps bleached with hydrogen peroxide. *Enzyme and Microbial Technology*, p. 115-123, 2000.

REID, R.; RICARD, M. Purified pectinase lowers cationic demand in peroxide-bleached mechanical pulp. *Enzyme and Microbial Technology*, n. 5, p. 499-504, 2004.

RIBEIRO, N. N.; FREITA, L. A.; TRALLI, L. F.; SILVA, A. F.; FREITA, C. M.; MENDES, F. Q.; TEIXEIRA, V.; JUNIOR, C. N. S.; MUTTON, M. J. R. Otimização das condições fermentativas de *pichia membranifaciens* para produção de etanol de segunda geração. *Quimica Nova*, v. 42, n. 7, p. 720-728, 2019.

RIGO, D.; GAYESKI, L.; TRES, G. A.; CAMERA, F. D.; ZENI, J.; VALDUGA, E.; CANSIAN, R. L.; BACKES, G. T. Microbiological Production of Enzymes: a Review. *Brazilian Journal of Development*, v. 7, n. 1, p. 9232-9254, 2021.

RODRIGUES, P. O.; GURGEL, L. V. A.; PASQUINI, D.; BADOTTI, F.; NETO, A. G.; BAFFI, M. A. Lignocellulose-degrading enzymes production by solid-state fermentation through fungal consortium among Ascomycetes and Basidiomycetes. *Renewable Energy*, v. 145, p. 2683-2693, 2020.

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.

SÁNCHEZ, C. Lignocellulosic residues: Biodegradation and bioconversion by fungi. *Biotechnology Advances*, v. 27, n. 2, p.185-194, Elsevier BV, 2009.

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, 2014.

SANTOS, S. F. M. Estudo da Produção de Pectinases por Fermentação em Estado Sólido Utilizando Pedúnculo de Caju como Substrato. Orientador: Gorete Ribeiro de Macedo. 2007. Tese de Doutorado (Doutorado em Engenharia Química) - Departamento de Engenharia química, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2007.

SAWADA, K.; UEDA, M. Enzyme processing of textiles in reverse micellar solution. *Journal of Biotechnology*, v. 89, n. 1-2, p. 263-269, 2001.

SCIELO. Scientific Electronic Library Online, 2021. Biblioteca eletrônica de publicação de periódicos científicos. Disponível em: <<https://www.scielo.br/>>. Acesso em 2021.

SCIENCEDIRECT. ScienceDirect, 2021. Biblioteca eletrônica de publicação de periódicos científicos. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/>>. Acesso em 2021.

SEYFRIED, M.; SILVA, A. S.; BOVO, F.; HANCKE, F. R. S.; MAURER, J. B. B.; BAGGIO, S. F. Z. Pectins of medicinal plants: structural characteristics and immunomodulatory activities. *Brazilian Journal of Medicinal Plants*, v. 18, n. 1, p. 201-214, 2016.

SILVA, R.; FRANCO, C. M. L.; GOMES, E. Pectinases, hemicelulases e celulases, ação, produção e aplicação no processamento de alimentos: Revisão. *Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 31, n. 2, p. 249-260, 1997.

SILVA; L. G. M. Biopurga de malha de algodão utilizando processo enzimático com associação de enzimas. Orientador: Antônio Augusto Ulson de Souza. 2013. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Florianópolis, 2013.

SIQUEIRA, F.G.; FILHO, E. X. F. Plant Cell Wall as a Substrate for the Production of Enzymes with Industrial Applications. Enzymology Laboratory, Cellular Biology Department, University of Brasília, Brasília, DF, 2010.

SIQUEIRA, F. G. et al. The potential of agro-industrial residues for production of holocellulase from filamentous fungi. *International Biodeterioration & Biodegradation*, v. 64, p. 20–26, 2010.

TEIXEIRA, A. J.; WESCHENFELDER, L. M.; ANTUNES, A.; ZENI, J.; BACKES, G. T.; CANSIAN, R. L. Commercial and non-commercial pectinase and cellulase on the enzymatic hydrolysis efficacy of rice husk and Tifton 85 hay. *Acta Scientiarum: Animal Sciences*, v. 41, ed. e45100, 2019.

TOLHURST, G.; HEFFRON, H.; LAM, Y. S.; PARKER, H.; HABIB, A. M.; DIAKOIANNAKI, E.; CAMERON, J.; GROSSE, J.; REIMANN, F.; GRIBBLE, F. M. Short-chain fatty acids stimulate glucagon-like peptide-1 secretion via the G-protein-coupled receptor FFAR2. *Diabetes*, v. 61, p. 364-371, 2012.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. *Microbiologia*. 8. ed., 2005.

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

VALENCIA, E. Y.; CHAMBERGO, F. S. Mini-review: Brazilian fungi diversity for biomass degradation. *Fungal Genetics and Biology*, v. 60, p. 9-18, 2013.

VORAGEM A. G. J., et al. Pectin, a Versatile Polysaccharide Present in Plant Cell Walls. *Structural Chemistry*, v. 20, no 2: p. 263–275, 2009.

WILLATS, W. G. T.; KNOX, J. P.; MIKKELSEN, J. D. Pectin: new insights into an old polymer as starting to gel. *Trends in Food Science & Technology*, v. 17, p. 97-104, 2006.

WOSIACKI, G.; CHIQUETIO, N.C., KIRCHNER, c.r. Avaliação do uso da maçã nacional (*Malus domestica*) para fins industriais. Parte II - Características de qualidade de sucos clarificados de cinco variedades: Anna, Gala, Ohio Beauty, Pome-3 e Rainha, colhidas na safra 1989/90. Ciênc. Tecnol. Aliment., v. 12, p. 160-173, 1992.