

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
ESCOLA DE ENGENHARIA DE LORENA

HELTON ALEXANDRE ISHII

Aplicações da Pectinase na Indústria de Sucos

LORENA

2014

HELTON ALEXANDRE ISHII

Aplicações da Pectinase na Indústria de Sucos

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado pela Escola de Engenharia de Lorena – Universidade de São Paulo como requisito para conclusão do curso de Engenharia Bioquímica.

Orientador: Dr. Júlio César dos Santos

LORENA

2014

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTES TRABALHOS, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Automatizado  
da Escola de Engenharia de Lorena,  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Ishii, Helton Alexandre  
Aplicações da Pectinase na Indústria de Sucos /  
Helton Alexandre Ishii; orientador Júlio César dos  
Santos. - Lorena, 2014.  
36 p.

Monografia apresentada como requisito parcial  
para a conclusão de Graduação do Curso de Engenharia  
Bioquímica - Escola de Engenharia de Lorena da  
Universidade de São Paulo. 2014  
Orientador: Júlio César dos Santos

1. Sucos. 2. Enzimas. 3. Pectinases. 4.  
Viscosidade. 5. Turbidez. I. Título. II. Santos,  
Júlio César dos, orient.

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DO TRABALHO DE  
CONCLUSÃO DO CURSO DO ALUNO HELTON ALEXANDRE ISHII  
ORIENTADO PELO PROF. DR. JÚLIO CÉSAR DOS SANTOS.

---



Júlio César dos Santos

Dedico este trabalho ao meu pai  
Eduardo e minha mãe Yuri pelo  
apoio e a pela oportunidade de  
fazer uma faculdade.

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, que me ensinaram muito e se dedicaram para me dar esta oportunidade de estudar, pelo suporte e por sempre me incentivarem.

Aos meus irmãos, pelos muitos ensinamentos que me proporcionaram e pelo companheirismo.

Ao Prof. Júlio César dos Santos pela paciência e ensinamentos como orientador deste trabalho.

A todos os meus amigos por todos os momentos alegres e tristes, pela companhia e pelos ensinamentos.

À minha namorada e amiga que sempre está ao meu lado me apoiando, incentivando e alegrando.

*“Que os vossos esforços desafiem as impossibilidades, lembrai-vos de que as grandes coisas do homem foram conquistadas do que parecia impossível.”*

(Charlie Chaplin)

## RESUMO

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

O consumo de sucos tem crescido ao longo do tempo devido a fatores como sua praticidade para o consumidor e boas características nutricionais. Para obter um produto de boa qualidade, todas as etapas de produção devem ser criteriosas e o uso das enzimas pectinolíticas resulta em sucos com boas propriedades físicas, tais como a viscosidade e a claridade, e ainda aumenta a eficiência do processo de produção por favorecer uma filtração mais rápida. Neste trabalho, foram apresentados e discutidos aspectos ligados à produção de sucos de frutas, às pectinas e pectinases e ao emprego destas enzimas neste setor industrial. Foram discutidos ainda exemplos com resultados relatados na literatura, os quais mostram condições nas quais o uso de pectinases resulta em economia do tempo de filtração e melhor aparência do suco, mostrando também como as enzimas imobilizadas e a alta pressão hidrostática podem aprimorar o processo.

Palavras – chave: Sucos. Enzimas. Pectinases. Viscosidade. Turbidez.

## ABSTRACT

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

The juice consumption has increased over time due to factors such as its practicality for the consumer and good nutritional characteristics. In order to obtain a product of good quality, all the steps of production must be carefully carried out and the use of pectinolytic enzymes results in juice with good physical properties such as viscosity and clarity and also increases the efficiency of the production process because favors a faster filtration step. In this work, aspects related to the production of fruit juices, pectins and pectinases and the use of these enzymes in this industrial sector were presented and discussed. Further examples with results reported in the literature, which show conditions in which the use of pectinase results in lower filtration time and better juice aspect were also discussed, besides showing the immobilized enzyme and high hydrostatic pressure as techniques which can improve the process.

Keywords: Juice. Enzymes. Pectinases. Viscosity. Turbidity.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Duas possíveis estruturas básicas da pectina .....	22
<b>Figura 2.</b> Modo de Ação das pectinases. PMGL: polimetilgalacturonato liase. PMG: polimetilgalacturonase. PMGE: polimetilgalacturonato esterase (pectina esterase). PGL: poligalacturonato liase (pectato liase). PG: poligalacturonase .....	25

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Composição geral das frutas em porcentagem .....	15
<b>Tabela 2.</b> Classificação de enzimas pectinolíticas.....	23
<b>Tabela 3.</b> Concentração de pectina em função da temperatura e do tempo de incubação.....	27
<b>Tabela 4.</b> Influência da temperatura na viscosidade (N = suco natural; D = suco tratado com enzima). .....	27

## SUMÁRIO

1 - INTRODUÇÃO .....	13
2 – INDÚSTRIA DE SUCOS .....	15
2.1 – Colheita e Pós-colheita .....	16
2.2 – Seleção e Lavagem .....	16
2.3 – Extração .....	17
2.4 – Clarificação e Filtração.....	17
2.5 – Desaeração.....	18
2.6 – Conservação .....	18
2.7 – Envase e Armazenamento .....	18
3 – PECTINASES E SEU USO NA INDÚSTRIA DE SUCOS.....	19
3.1. Enzimas na indústria de alimentos e o uso de pectinases.....	19
3.2 – Substâncias Pécicas .....	20
3.3 – Enzimas Pectinolíticas .....	21
3.3.1 – Protopectinases .....	24
3.3.2 – Poligalacturonase.....	24
3.3.3 – Liasas .....	25
3.3.4 – Pectinesterase.....	26
3.4 – Exemplos de uso de pectinases na indústria de sucos .....	26
4 – CONCLUSÃO.....	30
REFERÊNCIAS .....	31

## 1 - INTRODUÇÃO

Muitas frutas são desperdiçadas o ano todo devido a sua aparência física, não podendo ser comercializadas no varejo. Um exemplo é a maçã: para esta fruta, em torno de 30% da produção nacional não é considerada adequada para uso doméstico (FERTONANI; SIMÕES; NOGUEIRA; WOSIACKI, 2006).

Uma forma de evitar este desperdício é o aproveitamento das frutas na indústria de sucos. Entre estas, a pioneira foi a de suco de laranja, a qual se tornou importante em países como Brasil.

De fato, na década de 60, devido a grandes geadas, os Estados Unidos perderam grande parte dos seus pomares, resultando em falta de suco de laranja no país. Devido a este fato houve um grande impulso para a proliferação de pequenas indústrias de sucos do interior de São Paulo (VENTURINI, 2010). A laranja (*Citrus sinensis*) é a fruta industrializada em maior quantidade no Brasil, sendo que aproximadamente 72% dos frutos produzidos são processados na forma de suco Neves et al. (2001 apud EMBRAPA, 2003).

Após o suco de laranja, outros foram ganhando espaço e, atualmente, segundo Queiroz, Bezerra e Gasparetto (2010), o suco de uva é o mais consumido, correspondendo a 21% do total e sendo muito apreciado, tanto pelo seu sabor como por ser fonte natural de vitaminas e minerais.

De fato, o crescimento do consumo de sucos prontos no Brasil foi de 9,8% de 2012 para 2013. Em 2013, foram consumidos cerca de 367,6 milhões de litros de suco no país (TAMAMAR, 2013). Segundo Consumo [...] (2014), o suco que teve um crescimento muito elevado em pouco tempo foi o suco de uva integral: seu consumo aumentou 40% de 2012 a 2013.

Entre as estratégias utilizadas pelas indústrias para obtenção de produtos de boa qualidade e com um processo de alto rendimento, o uso de enzimas tem sido essencial (PINHEIRO et al., 2006).

As pectinases são enzimas largamente utilizadas na indústria de sucos, sendo responsáveis por degradar as substâncias pécticas, que são polímeros constituídos principalmente de ácido D-galacturônico, unidos por ligações  $\alpha$  - 1,4. Esta degradação ocorre pela hidrólise das ligações glicosídicas ao longo da cadeia carbônica (BRAGA et al., 2013; NOVOZYMES, 2013).

As substâncias pécticas são responsáveis pela viscosidade elevada dos sucos, os quais dificultam o processo de filtração, devido ao entupimento dos poros dos filtros. Com

o uso de enzimas pectinolíticas o tempo de filtração do processo pode diminuir em até 50% (UENOJO; PASTORE, 2007; BRAGA et al., 2013; NOVOZYMES, 2013).

Além de causar aumento da viscosidade, as substâncias pécticas deixam o suco com uma turbidez elevada, o que pode não ser bem aceito pelos consumidores. Neste caso, o uso destas enzimas pectinolíticas é de grande importância para obtenção de produtos com qualidades físico-químicas desejáveis, em especial com aparência límpida, a qual é obtida por meio da hidrólise das pectinas (UENOJO; PASTORE, 2007; BRAGA et al., 2013; NOVOZYMES, 2013).

Além destas principais funções, as pectinases podem ser utilizadas na redução do amargor dos sucos cítricos, como é o caso do limão, e também para restaurar o aroma específico da fruta que é perdido durante a secagem, aumentando a qualidade do produto, como ocorre com o pêsego (UENOJO; PASTORE, 2007).

Neste contexto, o presente trabalho apresenta uma discussão sobre o uso de pectinases na indústria de sucos, descrevendo ainda um pouco sobre o processo industrial associado a este setor e os benefícios devidos ao uso de enzimas.

## 2 – INDÚSTRIA DE SUCOS

Segunda a lei n° 8.918, de 14 de Julho de 1994 no Art. 5, “Suco ou sumo é bebida não fermentada, não concentrada e não diluída, obtida da fruta madura e sã, ou parte do vegetal de origem, por processamento tecnológico adequado, submetida a tratamento que assegure a sua apresentação e conservação até o momento do consumo.”

Atualmente, o consumo de sucos de frutas é crescente, pois as pessoas têm optado por algo mais prático devido ao ritmo intenso da vida diária, porém com altos valores nutritivos devido à presença de vitaminas e minerais (PINHEIRO et al., 2006).

A parte utilizada na produção de sucos é basicamente a porção comestível que, para o fruto, representa proteção para a semente (BATES; MORRIS; CRANDALL, 2001). A composição das frutas varia de acordo com cada espécie ou variedade, havendo, no entanto, algumas generalizações que podem ser feitas, conforme mostrado na Tabela 1.

**Tabela 1.** Composição geral das frutas em porcentagem

<b>Composição</b>	<b>Porcentagem</b>	<b>Comentários</b>
Água	70 – 97	Influenciada pelas condições de cultivo pós-colheita
Carboidratos	3 – 25	Açúcar e polímeros(pectina, celulose, hemicelulose)
Proteína	0 – 5	Mais presentes em sementes e frutas oleosas
Lipídeos	0 – 25	Traços na membrana celular, sementes
Ácidos	0 – 3	Cítrico, tartárico, málico, láctico, acético
Fenólicos	0 – 0,5	Taninos e complexos fenólicos
Vitaminas	0 – 0,2	Solubilidade água > Solubilidade em gordura
Minerais	0 – 0,2	Provenientes do solo
Fibras	<1 a >15	Casca
Pigmentos	0 – 0,1	Carotenóides, antocianinas, clorofila

Fonte: Bates, Morris e Crandall (2001)

As etapas do processamento do suco a partir das frutas são basicamente as mesmas: colheita, seleção e lavagem, extração, clarificação e filtração, desaeração, conservação, envase e armazenamento (ROSENTHAL et al., 2003).

## 2.1 – Colheita e Pós-colheita

Nesta primeira etapa é esperado que a fruta esteja madura e em perfeitas condições, o que nem sempre ocorre, pois qualquer mal tempo ou colheitas mal planejadas afetam na qualidade do produto, resultando em frutas danificadas ou com problemas relacionados ao teor de açúcar ou cor. Por isso a análise do produtor é muito importante, pois, analisando a forma, tamanho, cor e ausência de defeitos na fruta, evita-se uma colheita de produtos sem qualidade (SANTA'ANA; ROSENTHAL; MASSAGUER, 2008; BATES; MORRIS; CRANDALL, 2001).

Após essa análise é necessário uma colheita de forma “suave” e mantida em caixas apropriadas para armazenamento e transporte, evitando possíveis danos e contaminações. O transporte é um fator importante, pois o tempo muito demorado e com temperaturas fora do padrão afetam na qualidade do produto; mesmo com esse controle, no entanto, algumas frutas ficam fora do padrão (BATES; MORRIS; CRANDALL, 2001).

## 2.2 – Seleção e Lavagem

Estas são etapas de muita importância, pois o preço a ser pago nas frutas se baseia em seu estado e na presença de substâncias químicas ou microbiológicas, levando em consideração que a qualidade do suco está diretamente relacionada às características da fruta. A seleção pode ocorrer manualmente, com um grupo de pessoas analisando as frutas, ou por meio de máquinas com sensores específicos que avaliam o tamanho e qualidade do produto (BATES; MORRIS; CRANDALL, 2001). Durante a seleção é de grande importância a retirada de frutas podres, pois elas podem prejudicar um container inteiro (SANTA'ANA; ROSENTHAL; MASSAGUER, 2008).

A lavagem das frutas ocorre primeiramente em um tanque contendo água clorada, onde as frutas passam por um processo de imersão e, em seguida, as frutas já em uma esteira, passam por um jateamento de água para retirada de impurezas e do excesso de cloro da primeira etapa. Este estágio requer uma grande quantidade de água e, para minimizá-la, podem ser aplicados jatos de ar, esteiras vibratórias e escovas, retirando as sujeiras e terras

presentes na fruta (SANTA'ANA; ROSENTHAL; MASSAGUER, 2008; BATES; MORRIS; CRANDALL, 2001).

### 2.3 – Extração

Existem muitas formas de extração de suco da fruta, mas o primeiro passo é a retirada da casca, dos talos e sementes, pois uma quantidade significativa pode alterar a cor e principalmente, o sabor do produto (ROSENTHAL et al., 2003). As frutas já “despeladas” vão para um triturador, onde uma parte vira o suco e outra parte um purê de frutas, no qual, segundo Bates, Morris e Crandall (2001), é aplicado um tratamento enzimático visando à hidrólise de materiais fibrosos das plantas, tais como a pectina, aumentando o rendimento da extração e da clarificação.

Após este tratamento, ocorre a inativação enzimática com temperaturas entre 75 a 80 °C durante 15 a 30 segundos para frutas sensíveis e tratamentos acima de 65 °C durante um maior tempo para frutas mais resistentes. Além de eliminar a atividade enzimática que causa o escurecimento do suco, ele elimina a carga microbiana (BATES; MORRIS; CRANDALL, 2001; ROSENTHAL et al., 2003).

### 2.4 – Clarificação e Filtração

A clarificação é necessária para melhorar as características físicas dos sucos pela modificação da polpa, a qual é constituída de material fibroso e sólido (pectinas e celulose), os quais causam uma turbidez indesejável. Diminuindo esta turbidez, obtém-se um suco mais límpido. Isto é obtido principalmente por meio da filtração, que apresenta uma maior eficiência quando é utilizado tratamento enzimático na fase extrativa (BATES; MORRIS; CRANDALL, 2001; ROSENTHAL et al., 2003).

A filtração é utilizada na retirada dos compostos sólidos, sendo que os filtros podem também ser utilizados como um meio esterilizante, onde os poros microscópicos retêm os microrganismos. Para cada caso e suco, um tipo de filtro é utilizado, podendo ser usados filtros com poros de celulose, cerâmica, metal e plástico. O problema que existe nesta etapa é o entupimento dos poros e, para contornar esse problema, existem sistemas de filtro a vácuo ou filtros compostos com retro lavagem (BATES; MORRIS; CRANDALL, 2001).

Conforme Bates, Morris e Crandall (2001), alguns sucos, como o de laranja, necessitam manter turbidez para serem aceitos pelos consumidores - nesses casos não é

necessária a etapa de filtração, procedendo-se apenas a uma centrifugação (VENTURINI, 2010).

## 2.5 – Desaeração

Durante o processamento, o suco é incorporado com oxigênio, o qual pode promover escurecimento enzimático, destruir nutrientes e modificar o sabor, características indesejáveis que diminuem a qualidade do produto.

Essa incorporação de oxigênio pode ser minimizada trabalhando-se em temperaturas mais baixas (BATES; MORRIS; CRANDALL, 2001). Há ainda alguns métodos de desaeração utilizados industrialmente.

A remoção do oxigênio pode ser efetuada, por exemplo, adicionando um gás inerte (nitrogênio) ou colocando o suco aquecido em uma câmara de vácuo, embora o aquecimento possa prejudicar o aroma do produto (BATES; MORRIS; CRANDALL, 2001).

## 2.6 – Conservação

A conservação do suco é necessária para aumentar a vida útil do produto e eliminar a carga microbiana. Ela pode ser feita por meio da pasteurização do suco e envase imediato, seguindo para uma pasteurização do produto engarrafado a uma temperatura de 115 °C a 125 °C por 15 a 20 minutos (ROSENTHAL et al., 2003; SANT'ANA; ROSENTHAL; MASSAGUER, 2008).

Conservação química pode também ser realizada após o resfriamento do suco durante a pasteurização, adicionando-se conservantes como o ácido ascórbico e ácido benzóico (ROSENTHAL et al., 2003; SANT'ANA; ROSENTHAL; MASSAGUER, 2008).

## 2.7 – Envase e Armazenamento

O envase pode ser feito em garrafas de vidro, PET e embalagens cartonadas. Todas as informações sobre o suco devem estar rotuladas e, em seguida, o armazenamento deve ser a frio, caso o suco não possua conservantes, ou a temperatura ambiente caso possua (ROSENTHAL et. al, 2003).

### 3 – PECTINASES E SEU USO NA INDÚSTRIA DE SUCOS

#### 3.1. Enzimas na indústria de alimentos e o uso de pectinases

De acordo com a publicação Mercado [...] (2011), o uso de enzimas nas indústrias tem sido crescente - uma estimativa é que até 2015 o mercado global de enzimas movimentará US\$ 3,74 bilhões. No Brasil as indústrias líderes de mercado no uso de enzimas são as de detergente, com 41% da movimentação, seguidas pela indústria de alimentos, com 26%, de rações, com 8%, sendo os 25% restantes distribuídos em outros setores. As pectinases, em particular, correspondem a 25% do total de enzimas comercializadas (UENOJO; PASTORE, 2007).

O setor de laticínios é, provavelmente, uma das aplicações conhecidas e mais antigas na utilização de enzimas. Homero, autor de *Ilíada* e *Odisséia*, datando 800 a.C., já mencionava o uso de enzimas provenientes do estômago de cordeiro na fabricação de queijo. Estas enzimas são conhecidas hoje em dia por quimosina e pepsina (REVISTA ADITIVOS E INGREDIENTES, 2014).

Mas o primeiro grande avanço do uso das enzimas na indústria de alimentos ocorreu por volta dos anos 1960 com o lançamento da glicoamilase para hidrólise do amido, resultando em glicose. Depois disso, quase toda a produção de glicose mudou para hidrólise enzimática ao invés da hidrólise ácida tradicional (NOVOZYMES, 2013).

Hoje os consumidores procuram alimentos com boa qualidade e saudáveis e, por isso, o uso de enzimas cresceu muito. As aplicações das enzimas na indústria alimentícia são diversificadas, melhorando a textura, sabor e até favorecendo o processo de fabricação (KIRK; BORCHERT; FUGLSANG, 2002; LI et al., 2012).

Uma das mais importantes aplicações das enzimas é na indústria panificadora. Como se sabe, o pão é feito basicamente de farinha, água, fermento e sal, sendo a farinha composta de amido e glúten. O glúten age como uma malha e é responsável por segurar os gases CO<sub>2</sub> liberados durante a fermentação do amido, resultando no “crescimento” da massa. Atualmente, enzimas como as hemicelulases melhoram a resistência desta malha, melhorando as qualidades do pão. Outras enzimas também são utilizadas para melhorar o sabor e a conservação dos pães (NOVOZYMES, 2013; KIRK; BORCHERT; FUGLSANG, 2002).

Segundo a Novozymes (2013), outra aplicação industrial muito utilizada refere-se à indústria de sucos, na qual as enzimas são empregadas com o objetivo de melhorar

as qualidades físico-químicas, clarificando o produto, e também na diminuição da viscosidade para melhorar o processo de filtração, diminuindo assim o tempo de retenção.

Os sucos foram bem aceitos pelos consumidores por serem saborosos e com muitas propriedades nutricionais. Cada fruta, no entanto, resulta em um suco com diferentes propriedades e, particularmente, com diferentes graus de turbidez. Esta ocorre devido à presença de materiais insolúveis, que apresentam sabor, aroma e cor próprios (RIBEIRO et al., 2010).

No início, as indústrias de sucos sofriam muito com a baixa produtividade, problemas com a filtração e clarificação devido aos materiais insolúveis. Devido a estas dificuldades, o uso de enzimas tais como as pectinases, passou a ser prática de muitas indústrias do Brasil devido à grande melhoria das características físico-químicas dos produtos e aumento da eficiência na produção (UENOJO; PASTORE, 2007). O uso de enzimas muda as propriedades dos sucos, pois elas atuam quebrando as cadeias poliméricas de carboidratos, pectinas, hemiceluloses e amidos, compostos poliméricos que aumentam a viscosidade do suco e a turbidez (BASTOS et al., 2002).

### 3.2 – Substâncias Pécicas

Substância péctica é um nome genérico utilizado para denominar componentes nos quais as enzimas pectinolíticas atuam. São macromoléculas glicosídicas com alto peso molecular, variando de 25 a 360 kDa, estando presentes em tecidos de vegetais superiores e representado um dos maiores componentes da lamela média que envolve os polissacarídeos da parede celular - a celulose e a hemicelulose (SANDRI, 2010; JAYANI; SAXENA; GUPTA, 2005; UENOJO; PASTORE, 2007).

As substâncias pécticas são normalmente denominadas como pectina, um termo utilizado de forma genérica, e são encontradas na natureza sob diversas formas: protopectinas, ácidos pectínicos e ácidos pécticos, todos ricos em ácido galacturônico, constituindo aproximadamente 65% de sua estrutura (WILLATS; KNOX; MIKKELSEN, 2006; REVISTA ADITIVOS E INGREDIENTES, 2012).

As protopectinas são encontradas em frutas verdes, nas quais os grupos carboxílicos encontram-se esterificados e normalmente ligados ao cálcio das paredes celulares, formando o pectato de cálcio, explicando-se assim a sua insolubilidade na água. Durante o amadurecimento da fruta, a protopectina hidrolisa para pectina, podendo este ser

decomposto a álcool metílico e ácido pécico (JAYANI; SAXENA; GUPTA, 2005; REVISTA ADITIVOS E INGREDIENTES, 2012).

Os ácidos pectínicos são considerados substâncias coloidais e solúveis em água, contendo uma quantidade de metoxilas na forma de ésteres, sendo encontradas em frutas mais maduras a partir de uma hidrólise da protopectina pela ação da poligalactouronase (REVISTA ADITIVOS E INGREDIENTES, 2012).

Durante o processo de amadurecimento, os ácidos pécicos são formados a partir da pectinametilesterase, o qual promove a remoção dos grupos metílicos dos polímeros (REVISTA ADITIVOS E INGREDIENTES, 2012).

Segundo Willats, Knox e Mikkelsen (2006), a estrutura das substâncias pécicas é formada por três frações poliméricas: homogalacturonana (HG), ramnogalacturanana I, ramnogalacturanana II.

A homogalacturonana é constituída de ácidos galacturônicos unidos por ligações  $\alpha$ -1,4, algumas das quais podem estar esterificadas, apresentando assim maior resistência à hidrólise (WILLATS; KNOX; MIKKELSEN, 2006; SANDRI, 2010).

A ramnogalacturanana I é um polissacarídeo constituído de repetições de unidades de ácido galacturônico e ramnose na cadeia principal e as cadeias laterais são constituídas principalmente por arabinanas e galactanas, ligados às unidades de ramnose. A ramnogalacturanana II é um polímero constituído de ácido galacturônico, ramnose e galactose (WILLATS; KNOX; MIKKELSEN, 2006; SANDRI, 2010).

Segundo Willats, Knox e Mikkelsen (2006) existem teorias em que a cadeia principal é formada pela homogalacturonana, tendo as ramnogalacturanana I e II como as cadeias laterais, como mostrados na figura 1A. Outra teoria mais recente é que a cadeia principal é formada por ramnogalacturonana I e a ramificação é constituída de homogalacturonana, como é mostrado na figura 1B.

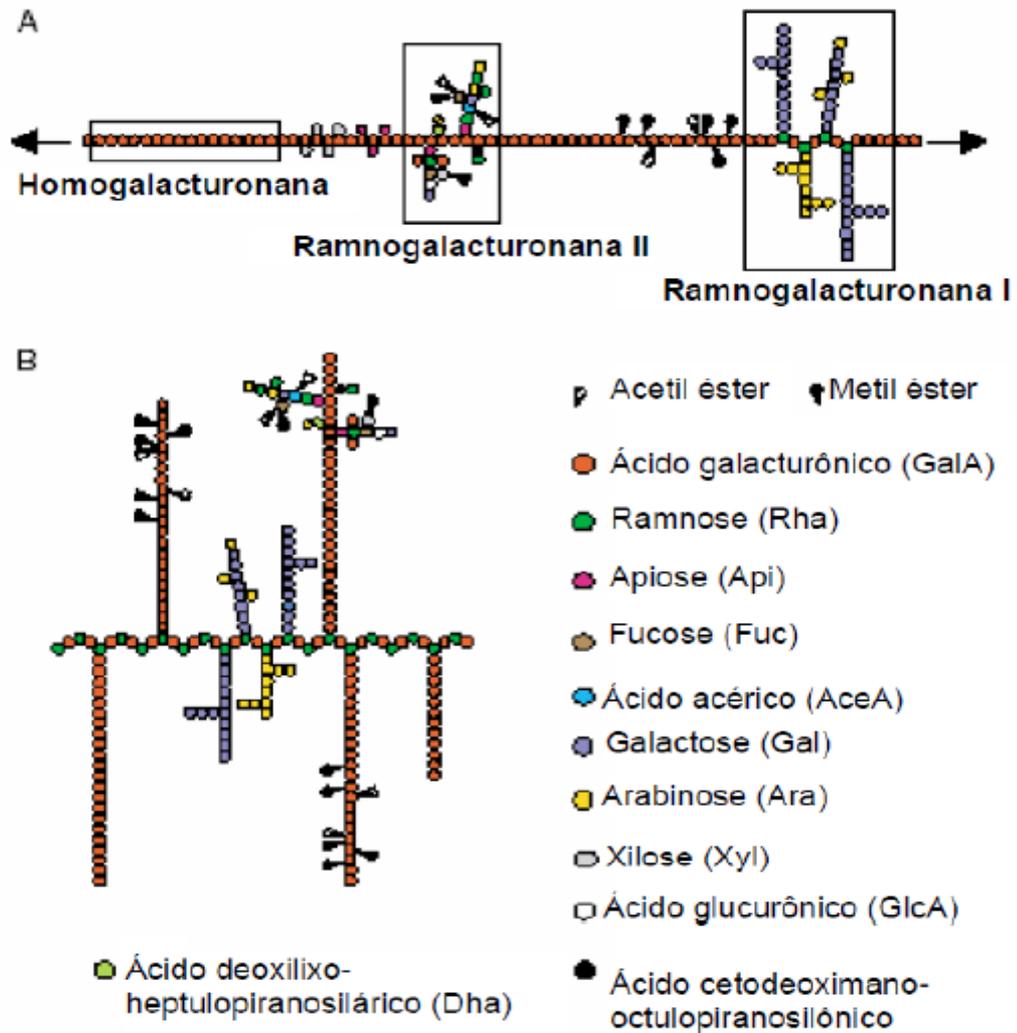
### 3.3 – Enzimas Pectinolíticas

As pectinases ou enzimas pectinolíticas são produzidas por bactérias, leveduras e fungos filamentosos, insetos e plantas, com o objetivo de utilizar as pectinas como fontes de carbono (SANDRI, 2010). Segundo Jayani, Saxena e Gupta (2005), estas enzimas são divididas em três grandes grupos:

1 – Protopectinases: Degradam a protopectina, que é insolúvel, para dar origem à pectina solúvel.

- 2 – Esterases: Catalisam a esterificação da pectina pela remoção de ésteres metoxi.
- 3 – Despolimerases: Catalisam a clivagem das ligações  $\alpha - 1,4$  do ácido galacturônico da cadeia principal do polissacarídeo pectico.

**Figura 1.** Duas possíveis estruturas básicas da pectina



Fonte: Willats, Knox e Mikkelsen (2006)

As enzimas despolimerizantes são classificadas por meio de três parâmetros: de acordo com o tipo de clivagem das ligações glicosídicas, a posição de ataque no substrato e o tipo de substrato hidrolisado. A clivagem das ligações podem ser hidrolítica (hidrolases), que catalisam a hidrólise de ligações  $\alpha-1,4$  e a clivagem transeliminativa (liases), que catalisam a  $\beta$ -eliminação. Os mecanismos de ação podem ser do tipo “endo” (randômica) ou “exo” (a partir do final da molécula) e os tipos de substratos podem ser o ácido pectico ou a pectina (UENOJO; PASTORE, 2007; SANDRI, 2010).

Considerando-se as pesquisas recentes desenvolvidas nos últimos anos, no entanto, a classificação dada acima para as enzimas pectinolíticas está se tornando obsoleta. Uma classificação mais recente e elaborada é apresentada na tabela 2, que apresenta diferentes grupos de pectinases, mostrando ainda seu mecanismo de ação, sua forma de ação padrão, substrato primária e produto.

**Tabela 2.** Classificação de enzimas pectinolíticas

Enzima	E.C. no.	Mecanismo de Ação	Ação Padrão	Substrato Primário	Produto
<b>Desmetoxilantes</b>					
1. Pectina-metil-esterase	3.1.1.11	Hidrólise	Aleatória	Pectina	Ác. Pético + metanol
<b>Despolimerizantes</b>					
A) Hidrolases					
1. Protopectinases		Hidrólise	Aleatória	Protopectina	Pectina
2. Endopoligalacturonase	3.2.1.15	Hidrólise	Aleatória	Ác. Pético	Oligogalacturonatos
3. Exopoligalacturonase 1	3.2.1.67	Hidrólise	Final	Ác. Pético	Monogalacturonatos
4. Exopoligalacturonase 2	3.2.1.82	Hidrólise	Penúltima Ligação	Ác. Pético	Digalacturonatos
5. Endopolimetilgalacturonase		Hidrólise	Aleatória	Pectina Esterificada	Oligometilgalacturonatos
6. Exopolimetilgalacturonase		Hidrólise	Final	Pectina Esterificada	Oligogalacturonatos
B) Liases					
1. Endopoligalacturonato liase	4.2.2.2	Trans- eliminação	Aleatório	Ác. Pético	Oligogalacturonato insaturado
2. Exopoligalacturonato liase	4.2.2.9	Trans- eliminação	Penúltima Ligação	Ác. Pético	Digalacturonato insaturado
3. Endopolimetilgalacturonato liase	4.2.2.10	Trans- eliminação	Aleatório	Polimetildigalacturonato insaturado	Metiloligogalacturonato insaturado
4. Exopolimetilgalacturonato liase		Trans- eliminação	Final	Polimetildigalacturonato insaturado	Metilmonogalacturonato insaturado

Fonte: Jayani, Saxena e Gupta (2005)

### 3.3.1 – Protopectinases

Segundo Jayani, Saxena e Gupta (2005), a protopectinase é responsável por catalisar a reação da protopectina (insolúvel) em pectina (solúvel) de acordo com a reação:



As protopectinases são divididas em dois tipos, o tipo A e o tipo B. O tipo A é o que reage com o sítio interno, a região do ácido poligalacturônico da protopectina. O tipo B reage com o sítio externo, ou seja, com as ramificações que podem estar ligadas ao ácido poligalacturônico (UENOJO; PASTORE, 2007).

A PPase (ProtoPectinase) do tipo A pode ser obtida a partir de alguns fungos como *Kluyveromyces fragilis* IFO 0288, *Galactomyces reesei* L. e *Trichosporon penicillatum*, conhecidos também como PPase-F, -L e -S, respectivamente, possuindo praticamente as mesmas propriedades. A Protopectinase do tipo B pode ser encontrada a partir de *Bacillus subtilis* IFO 12113, *B. subtilis* IFO 3134 e *Trametes sp.*, conhecidos também como PPase-B, -C, -T, respectivamente (JAYANI; SAXENA; GUPTA, 2005).

### 3.3.2 – Poligalacturonase

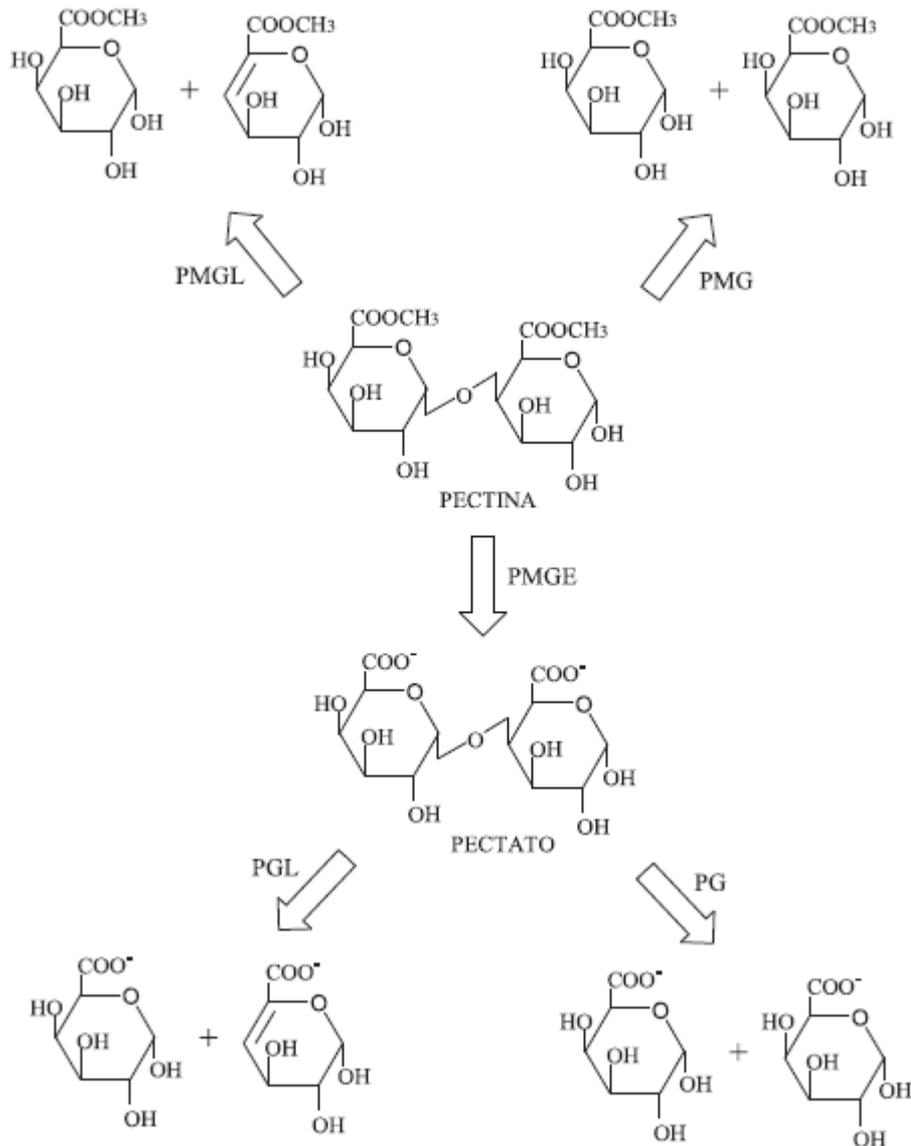
As poligalacturonases são as enzimas que catalisam a clivagem hidrolítica da cadeia do ácido poligalacturônico com a introdução de água na ponte de oxigênio como representado na Figura 2, podendo ser de três tipos. Endo-PG: hidrolisa aleatoriamente as ligações  $\alpha$ -1,4 do ácido poligalacturônico; Exo-PG1: hidrolisa as ligações sucessivas do ácido poligalacturônico a partir da extremidade não redutora, liberando ácidos galacturônicos; Exo-PG2: atua da mesma maneira que o exo-PG1, mas com a diferença que libera o ácido digalacturônico (UENOJO; PASTORE, 2007; SANDRI, 2010).

Segundo Jayani, Saxena e Gupta (2005), a atividade da PG é determinada durante o andamento da reação, quando existe um aumento no número de grupos redutores e ocorre uma diminuição da viscosidade.

As hidrolases incluem também as polimetilgalacturonases (PMG). A PMG hidrolisa o polimetil-galacturonatos a oligometilgalacturonatos, podendo ser do tipo endo-, o qual hidrolisa a ligação  $\alpha$ -1,4 da pectina altamente esterificada, ou do tipo exo-, que hidrolisa

a ligação glicosídica  $\alpha$ -1,4 da pectina na extremidade não redutora (UENOJO; PASTORE, 2007; SANDRI, 2010).

**Figura 2.** Modo de Ação das pectinases. PMGL: polimetilgalacturonato liase. PMG: polimetilgalacturonase. PMGE: polimetilgalacturonato esterase (pectina esterase). PGL: poligalacturonato liase (pectato liase). PG: poligalacturonase



Fonte: Uenojo e Pastore (2007)

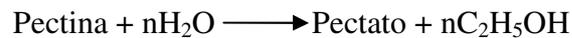
### 3.3.3 – Liases

As liases executam a quebra não hidrolítica de pectatos ou pectinatos, por meio da trans-eliminação do polímero pectico, como representado na figura 2. Ao romper as ligações glicosídicas, o ácido galacturônico formado fica com uma ligação insaturada nos

carbonos 4 e 5. As liases são divididas em dois grupos, polimetilgalacturonato liase (PMGL) que é responsável por catalisar a  $\beta$ -eliminação entre dois resíduos de ácido galacturônico, a partir da quebra das ligações de hidrogênio dos carbonos 4 e 5, podendo ser de forma –endo e –exo. Há ainda a poligalacturonato liase (PGL), a qual catalisa a clivagem das ligações  $\alpha$ -1,4 por trans-eliminação do ácido pectico, podendo ser de forma –endo e –exo (JAYANI; SAXENA; GUPTA, 2005; UENOJO; PASTORE, 2007; SANDRI, 2010).

### 3.3.4 – Pectinesterase

A pectinesterase, chamada muitas vezes por pectinametilesterase, polimetilgalacturonato esterase (PMGE) e pectase, atua catalisando a hidrólise dos grupos metil éster da pectina, convertendo a pectina em pectato e liberando o metanol, como é possível analisar na figura 2; assim as liases e poligalacturonases atuam sobre o pectato (JAYANI; SAXENA; GUPTA, 2005; UENOJO; PASTORE, 2007).



### 3.4 – Exemplos de uso de pectinases na indústria de sucos

Muitas pesquisas têm sido realizadas comprovando a eficiência das pectinases em sucos de diferentes frutas, diminuindo a viscosidade e a turbidez, melhorando assim a filtração e as características físicas do suco.

Braga et al. (2013), por exemplo, estudaram o comportamento reológico do suco de abacaxi pérola ao fazer um tratamento com pectinases, medindo a concentração de pectina e a viscosidade do suco. Os dados obtidos por estes autores são apresentados nas tabelas 3 e 4.

**Tabela 3.** Concentração de pectina em função da temperatura e do tempo de incubação

Ensaio	Temperatura (°C)	Tempo (min)	Concentração de Pectina (mgAG.L <sup>-1</sup> )
1	30	40	710,9
2	30	80	365,5
3	50	40	206,9
4	50	80	105,5

Fonte: Braga et al. (2013)

Baseando-se na Tabela 3, Braga et al. (2013) verificaram que a quantidade de pectina no suco diminuiu devido à ação da enzima e, com o auxílio da temperatura e do tempo, este resultado se tornou mais eficiente. Neste trabalho, como a concentração de pectina na amostra integral era de 1770,4 mgAG.L<sup>-1</sup>, o uso de pectinases resultou em uma redução de até 94,03% de pectina.

**Tabela 4.** Influência da temperatura na viscosidade (N = suco natural; D = suco tratado com enzima).

$\eta_{ap}$ (mPa.s)	Temperatura (°C)			
	10	25	50	65
N	8,9	6,0	3,2	2,4
D	5,7	4,3	2,1	1,4

Fonte: Braga et al. (2013)

Com base na tabela 4, Braga et al. (2013) analisaram a influência da temperatura na viscosidade de uma amostra com suco natural e outra amostra com suco tratado enzimaticamente. Assim, conforme os autores demonstraram, a viscosidade é bem menor no suco tratado, diminuindo com o aumento da temperatura.

Queiroz et al. (2000), em outro trabalho realizado com abacaxi, analisaram os comportamentos reológicos dos sucos naturais e dos sucos despectinizados, verificando que a viscosidade do material natural e despectinizado acompanharam os teores de sólidos insolúveis. Quanto maior a quantidade de sólidos insolúveis, maior foi a viscosidade em “mPa.s”, sendo assim observada uma maior viscosidade em sucos de abacaxi naturais em relação ao suco despectinizado. Neste trabalho, avaliou-se também o comportamento reológico dos sucos, observando-se que a fração integral e todas as frações peneiradas de suco de abacaxi despectinizado apresentaram comportamento pseudoplástico.

Abdullah et al. (2007), por sua vez, utilizaram a carambola como matéria-prima e analisaram as características físico-químicas após o uso de enzimas pecticas no suco obtido, verificando a turbidez, claridade, viscosidade e cor. Neste trabalho, os autores empregaram planejamento estatístico e avaliaram a influência, nas características do suco, das variáveis, temperatura, tempo de incubação e concentração enzimática. Modelos matemáticos foram compostos e superfícies de resposta foram traçadas. Os resultados indicaram que a variável concentração enzimática foi o fator que mais influenciou as características do suco obtido. As condições selecionadas foram concentração enzimática de 0,1%, com tempo de incubação de 20 min e temperatura de 30°C.

Em um trabalho mais recente, Sagu et al. (2013) realizaram estudo semelhante com a banana, obtendo um suco mais clarificado e com uma viscosidade mais baixa após a aplicação das pectinases. A alta temperatura (maiores do que 40 °C) teve um alto impacto nas características finais do suco, como uma alta viscosidade e turbidez. Este impacto foi atribuído à desnaturação das enzimas em temperaturas mais elevadas.

Outras alternativas tecnológicas também têm sido relatadas para aplicação de pectinases em sucos, como o uso de enzimas imobilizadas e alta pressão hidrostática.

Enzimas imobilizadas são enzimas fisicamente confinadas numa certa região do espaço com retenção de suas atividades catalíticas e que podem ser usadas repetida e continuamente, enquanto o sistema enzimático se mantiver ativo. Idealmente, a enzima imobilizada deverá exibir uma atividade catalítica superior. Além disso, não deverão ocorrer alterações estruturais danosas à atividade catalítica, bem como modificações no sítio ativo (GANDHI, 1997). O desenvolvimento de técnicas de imobilização tem sido importante por propiciar a reutilização destas enzimas, facilitar a separação dos produtos, aumentar a estabilidade em solventes orgânicos (Dalla-Vecchia et al., 2004), além de alterar as propriedades catalíticas e físico-químicas da enzima em relação à sua forma solúvel, conferindo, por exemplo, maior estabilidade ao pH e à temperatura (Zanin e Moraes, 2004).

Com relação ao uso de pectinases imobilizadas, pode-se citar o trabalho de Wang et al. (2013). Neste trabalho, pectinase de *Penicillium oxalicum* F67 (PoPase) foi imobilizada em microesferas de amido de milho magnetizadas. Os parâmetros utilizados para a imobilização foram a concentração de enzima de 0,2%, e a concentração de glutaraldeído de 3,5%, pH 4 e o tempo de imobilização de 4 horas. A pectinase imobilizada foi utilizada 8 vezes no processo de fabricação do suco, apresentando ao final uma atividade enzimática de 60% da atividade inicial, com uma temperatura ótima de 50 °C e um pH ótimo de 4,5.

Em outro trabalho, Lei e Bi (2007) relataram um estudo do uso do polímero poli-(estireno co-ácido acrílico) como suporte para a imobilização, tendo como parâmetros uma temperatura de 10 °C, pH 6, concentração de 10 U/mL de enzima e com tempo de imobilização de 1 hora. O sistema imobilizado apresentou, da mesma forma que a enzima livre, atividade máxima em pH 4 e 65 °C.

Outra alternativa relatada é o uso de altas pressões hidrostáticas, processo utilizado em alimentos líquidos ou sólidos que são submetidos a pressões acima de 100 MPa. Em um espaço confinado, um fluido (normalmente a água) é empregado a fim de transferir as pressões igualmente em todas as direções sobre o alimento. Este método foi inicialmente utilizado como uma forma de inativar as enzimas que são prejudiciais para a qualidade dos alimentos, evitando assim uma possível deterioração ou para eliminar a carga microbiana do alimento (ROSENTHAL et al., 2005; TORREZAN, 2003; TOMLIN et al., 2014).

Alguns estudos documentam os efeitos da estabilização e ativação que a pressão elevada pode ter sobre as enzimas. Dois estudos foram feitos por Tomlin (2013, 2014), por exemplo, analisando os efeitos da temperatura e altas pressões sobre a viscosidade do suco obtido e a atividade enzimática. Em altas pressões, 200 – 300 Mpa, e temperatura entre 42,4 e 62,4 °C, ocorreu uma diminuição na viscosidade da solução de pectina e um aumento na atividade enzimática. Sob as melhores condições obtidas, de 300 MPa e temperatura de 62,4 °C, a velocidade de reação foi de 2 a 3 vezes maior que em temperatura de 45 °C e pressão atmosférica.

Embora haja uma série de aplicações desejáveis das pectinases, muitas vezes o efeito da presença destes biocatalisadores pode ser indesejável, como é o caso do suco de laranja e do suco de tomate, que só são aceitos pelo consumidor caso apresentem alguma turbidez. Nestes casos, o uso de pectinases é limitado à função de auxiliar de filtração, sendo feita a desnaturação da enzima por meio do aquecimento do suco, ou por meio do congelamento, visando-se a evitar clarificação excessiva (ABDULLAH et al., 2007; UENOJO; PASTORE, 2007).

#### 4 – CONCLUSÃO

Por serem produtos do setor alimentício, todas as etapas de produção dos sucos de frutas devem ser bem controlados, desde a colheita até o envase, evitando que qualquer contaminação afete as características finais do produto. Além de todo o controle, as indústrias seguem caminhos para que a produção deste produto seja de grande eficiência, sendo esta aprimorada devido ao uso de enzimas neste setor.

A enzima pectinase é adicionada durante o processo de extração do suco, resultando em melhor extração de produto e sucos mais clarificados e com uma menor viscosidade. A claridade agrega uma melhor qualidade do produto para o consumidor e a viscosidade melhora o tempo de filtração na produção do suco, diminuindo-o em até 50%, aumentando assim a eficiência do processo.

Outras técnicas como o uso de pectinases imobilizadas e de altas pressões hidrostáticas, têm sido relatadas para melhorar a eficiência do uso destas enzimas ou dos processos de extração do suco. As pectinases imobilizadas podem ser reutilizadas diversas vezes no processo, com baixa perda de atividade ao longo das sucessivas bateladas. O método de altas pressões hidrostáticas, por sua vez, aprimora mais ainda o processo de redução das substâncias pécnicas, resultando em velocidade de reação 2 a 3 vezes maior.

No entanto, o uso das enzimas no geral deve ser bem controlado, pois além do seu alto valor agregado, elas são muito sensíveis, pois qualquer interferência como, temperatura e pH, pode causar a sua desnaturação, não resultando assim no efeito desejado. Portanto, toda uma estrutura deve ser preparada para uma boa execução e aproveitamento dos benefícios desta enzima.

## REFERÊNCIAS

- ABDULLAH A.G.L.; SULAIMAN, N.M.; AROUA, M.K.; NOOR, M.J.M.M. Response surface optimization of conditions for clarification of carambola fruit juice using a commercial enzyme – Journal of food Engineering, 2007. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877406006406> >. Acesso em: 15/08/14.
- BATES, R.P.; MORRIS, J.R.; CRANDALL, P.G. Principles and practices of small and medium scale fruit juice processing. Rome: FAO, 2001.
- BASTOS, M.S.R.; GURGEL, T.M.P.; FILHO, M.S.M.; LIMA, I.F.B.; SOUZA, A.C.R.; SILVA, J.B. Efeito da aplicação de enzimas pectinolíticas no rendimento da extração de polpa de cupuaçu, vol. 24, no. 1 – Revista Brasileira Fruticultura, 2002. Disponível em: < [http://www.ceinfo.cnpat.embrapa.br/arquivos/artigo\\_1940.pdf](http://www.ceinfo.cnpat.embrapa.br/arquivos/artigo_1940.pdf) >. Acesso em: 20/09/2014.
- BRAGA, A.C.C.; RODRIGUES, A.M.C.; SILVA, L.H.M.; ARAÚJO, L.A. Avaliação da influência da temperatura e do tratamento enzimático no comportamento reológico do suco de abacaxi pérola, vol. 35, no.1 – Revista Brasileira Fruticultura, 2013. Disponível em: < [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-29452013000100026&lng=pt&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-29452013000100026&lng=pt&nrm=iso) >. Acesso em: 13/08/2014.
- CONSUMO de suco de uva cresceu 40% em 2013 – Pioneiro, 2014. Disponível em: < <http://pioneiro.clicrbs.com.br/rs/noticia/2014/02/consumo-de-suco-de-uva-cresceu-40-em-2013-4411658.html> >. Acesso em: 18/10/2014.
- DALLA-VECCHIA R, NASCIMENTO MG, SOLDI V. Aplicações sintéticas de lipases imobilizadas em polímeros, vol. 27, no. 4 - Química Nova, 2004
- EMBRAPA. Embrapa mandioca e fruticultura: Sistema de produção de citros para o Nordeste – Sistema de Produção, 2003. Disponível em: < <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Citros/CitrosNordeste/processamento.htm> >. Acesso em: 15/08/2014.

FERTONANI, H.C.R.; SIMÕES, D.R.S.; NOGUEIRA, A.; WOSIACKI, G. Potencial da variedade Joaquina para o processamento de suco clarificado e vinho seco de maçã, vol.26, no.2 – Food Science and Technology, 2006. Disponível em: < [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0101-20611998000300005&lng=pt&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20611998000300005&lng=pt&nrm=iso) >. Acesso em: 15/08/2014.

GANDHI, N.N. Applications of lipase. Journal of the American Oil Chemists' Society, 1997.

GAVA, A.J. Princípios de Tecnologia de Alimentos, ed. 1 – Editora Nobel, 1998.

JAYANI, R.S.; SAXENA, S.; GUPTA, R. Microbial pectinolytic enzymes: A review, vol. 40, no. 9 – Process Biochemistry, 2005. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359511305001765#> >. Acesso em: 20/09/2014.

KIRK, O.; BORCHERT, T.V.; FUGLSANG C. C. Industrial enzyme applications. Elsevier Science Ltd. 2002. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0958166902003282> >. Acesso em: 24/08/2014.

LEI Z.; BI SHUXIAN. Preparation and properties of immobilized pectinase onto the amphiphilic PS-b-PAA diblock copolymers, vol. 128, no. 1 – Journal of Biotechnology, 2007. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168165606007358> >. Acesso em: 16/10/2014.

LI, S.; YANG, X.; YANG, S.; ZHU, M.; WANG, X. Technology Prospecting on Enzymes: Application, Marketing and Engineering, vol. 2 – Computational and Structural Biotechnology Journal, 2012. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2001037014600957> >. Acesso em: 24/08/2014.

MERCADO global de enzimas movimenta US\$3,74 bilhões até 2015. Campinas, SP, 2011. Disponível em: <

<http://www.diadecampo.com.br/zpublisher/materias/Materia.asp?id=25353&secao=Agrotemas> >. Acesso em: 18/10/2014.

NELSON, D. L.; COX, M. Lehninger – Princípios de Bioquímica. 3ed. São Paulo: Sarvier, 2002.

NOVOZYMES. Enzymes at work. Novozymes A/S, 2013. Disponível em: <[http://www.novozymes.com/en/about-us/brochures/Documents/Enzymes\\_at\\_work.pdf](http://www.novozymes.com/en/about-us/brochures/Documents/Enzymes_at_work.pdf)>. Acesso em: 24/08/2014.

PINHEIRO, A.M.; FERNANDES, A.G.; FAI, A.E.C.; PRADO, G.M.; SOUSA, P.H.M.; MAIA, G.A. Avaliação química, físico-química e microbiológica de sucos de frutas integrais: abacaxi, caju e maracujá, vol. 26, no.1 – Food Science and Technology, 2006. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0101-20612006000100017&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612006000100017&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 30/08/2014.

QUEIROZ, A.J.M.; BEZERRA, J.R.M.V.; GASPARETTO, C.A. Influência de diferentes teores de sólidos insolúveis suspensos nas características reológicas de sucos de abacaxi naturais e despectinizados, vol. 4, no.1 – Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, 2000. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1415-43662000000100014&lng=pt&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-43662000000100014&lng=pt&nrm=iso)>. Acesso em: 13/08/2014.

REVISTA ADITIVOS E INGREDIENTES: Função e aplicação das enzimas nos alimentos, no 105 – Editora Insumos, Fevereiro 2014. Disponível em: <[http://www.insumos.com.br/aditivos\\_e\\_ingredientes/materias/647.pdf](http://www.insumos.com.br/aditivos_e_ingredientes/materias/647.pdf)>. Acesso em: 23/08/2014.

REVISTA ADITIVOS E INGREDIENTES: Pectinas ação e utilização nos alimentos, no 86 – Editora Insumos, Março 2012. Disponível em: <[http://www.insumos.com.br/aditivos\\_e\\_ingredientes/materias/365.pdf](http://www.insumos.com.br/aditivos_e_ingredientes/materias/365.pdf)>. Acesso em: 22/09/2014.

REVISTA FOOD INGREDIENTS BRASIL: Enzimas Natureza e ação nos alimentos, no 16 – Editora Insumos, 2011. Disponível em: < <http://www.revista-fi.com/materias/166.pdf> >. Acesso em: 23/08/2014.

RIBEIRO, D.S.; HENRIQUE, S.M.B.; OLIVEIRA, L.S.; MACEDO, G.A.; FLEURI L.F. Enzymes in juice processing: a review – Food Science & Technology, 2010. Disponível em: <<http://web.b.ebscohost.com/ehost/pdfviewer/pdfviewer?sid=f9f3ae70-3b69-4fb0-ae6f-b25ddc768c8f%40sessionmgr115&vid=1&hid=123>>. Acesso em: 15/09/2014.

ROSENTHAL, A.; MATTA, V. M.; CABRAL, L. M. C.; FURTADO, A. A. L. Processo de Produção. Iniciando um pequeno grande negócio agroindustrial: polpa e suco de frutas. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica: Embrapa Hortaliças: SEBRAE, 2003.

ROSENTHAL, A.; DELIZA, R.; SIQUEIRA, R.S.; LABOISSIÈRE, L.H.E.S.; CAMARGO, L.M.A.Q.; MARCELLINI, A.M.B. Polpa de Maracujá Processada por Alta Pressão Hidrostática. Rio de Janeiro, RJ: Embrapa, 2005. Disponível em: < <http://www.ufrgs.br/alimentus/disciplinas/tecnologia-de-alimentos-especiais/alta-pressao/polpa-de-maracuja> >. Acesso em: 16/10/2014.

SAGU, S.T.; NSO, E.J.; KARMAKAR, S.; DE, S. Optimisation of low temperature extraction of banana juice using commercial pectinase – Food Chemistry, 2013. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814613016555> >. Acesso em: 15/08/2014.

SANDRI, I.G. Enzimas Pectinolíticas: Seleção de linhagens fúngicas produtoras, caracterização e aplicação em processos da Indústria de Alimentos, 2010. Disponível em: < [http://tede.uces.br/tde\\_busca/arquivo.php?codArquivo=381](http://tede.uces.br/tde_busca/arquivo.php?codArquivo=381) >. Acesso em: 20/09/2014.

SANT'ANA, A.S.; ROSENTHAL, A.; MASSAGUER, P.R. The fate of patulin in apple juice processing: A review, vol. 41 – Food Research International, 2008. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996908000586> >. Acesso em: 30/08/2014.

TAMAMAR, G. Empreendedores apostam no suco pronto saudável e (muito) lucrativo – Jornal Estadão, 2013. Disponível em: < <http://pme.estadao.com.br/noticias/noticias,empreendedores-apostam-no-suco-pronto-saudavel-e-muito-lucrativo,3589,0.htm> >. Acesso em: 18/10/2014.

TOMLIN, B.D.; JONES, S.E.; TEIXEIRA, A.A.; CORRELL, M.J.; REYES-DE-CORCUERA, J.I. Kinetics of viscosity reduction of pectin solutions using a pectinase formulation at high hydrostatic pressure, vol. 129 – Journal of Food Engineering, 2014. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S026087741400017X> >. Acesso em: 16/10/2014.

TOMLIN, B.D.; JONES, S.E.; REYES-DE-CORCUERA, J.I. High hydrostatic pressure protection of a pectinase cocktail against thermal inactivation, vol. 116, no. 3 - Journal of Food Engineering, 2013. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0260877413000332> >. Acesso em: 16/10/2014.

TORREZAN, R. Uso da Tecnologia de Alta Pressão para a Inativação de Microrganismos em Produtos Cárneos, vol. 21, no. 2 – B. CEPPA, Curitiba, 2003. Disponível em: < [http://www.ufrgs.br/alimentus/disciplinas/tecnologia-de-alimentos-especiais/alta-pressao/pap\\_carne](http://www.ufrgs.br/alimentus/disciplinas/tecnologia-de-alimentos-especiais/alta-pressao/pap_carne) >. Acesso em: 16/10/2014.

UENOJO, M.; PASTORE, G.M. Pectinases: aplicações industriais e perspectivas, vol. 30, no.2 – Quím. Nova, 2007. Disponível em: < [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-40422007000200028](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422007000200028) >. Acesso em: 15/08/2014.

VENTURINI FILHO, W.G. Bebidas não alcoólicas: Ciência e Tecnologia, vol. 2 – Editora Blucher, 2010

WANG, B.; CHENG, F.; LU, Y.; GE, W.; ZHANG, M.; YUE, B. Immobilization of pectinase from *Penicillium oxalicum* F67 onto magnetic cornstarch microspheres: Characterization and application in juice production, vol. 97 – Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, 2013. Disponível em: <

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1381117713002191> >. Acesso em: 16/10/2014.

WILLATS, W.G.T; KNOX, J.P; MIKKELSEN, J.D. Pectin new insights into an old polymer are starting to gel, vol. 17, no.3 – Trends in Food Science & Technology, 2006. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924224405002517#> >. Acesso em: 21/09/2014

ZANIN, G.M.; MORAES F.F. Enzimas Imobilizadas. In SAID, S. e PIETRO, R. C. L. R. Enzimas como agentes Biotecnológicos. Ribeirão Preto: Legis Summa, 2004, p. 35-85.