

## *Índice*

**38** **Avaliação físico-química do doce de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) industrializado**

*Physico-chemical evaluation of industrialized cupuassu (*Theobroma grandiflorum*) candy*

**44** **Influência do pH e da temperatura na produção de pectinases produzidas por uma linhagem de levedura**

*Temperature and pH effect on the activity of pectinase produced by one yeast strain*

# Avaliação físico-química do doce de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) industrializado

*Physico-chemical evaluation of industrialized cupuassu  
(Theobroma grandiflorum) candy*

<sup>1</sup>Paulo Roberto Barros Gomes<sup>\*a</sup>, Jaciara Costa Carneiro<sup>b</sup>, Andréa Vasconcelos Melo<sup>a</sup>,  
Adriana Crispim de Freitas<sup>a</sup>, Wellington da Silva Lyra<sup>c</sup>, Victor Elias Mouchrek Filho<sup>d</sup>,  
Leandro Lima Carvalho<sup>a</sup>, Helson Souza de Lima<sup>a</sup>, Eduardo Fonseca Silva<sup>a</sup>,  
Helilma de Andréa Pinheiro<sup>a</sup>, Hilton Costa Louzeiro<sup>e</sup>, Rosileide Ferreira Silva<sup>f</sup>

<sup>a</sup> Coordenação de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Maranhão

<sup>b</sup> Universidade Estadual do Maranhão

<sup>c</sup> Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade Federal da Paraíba-Campus João Pessoa

<sup>d</sup> Departamento de Tecnologia Química, Universidade Federal do Maranhão

<sup>e</sup> Coordenação do Curso de Licenciaturas em Ciências Naturais, Universidade Federal do Maranhão

<sup>f</sup> Centro Universitário do Maranhão (CEUMA)

\*prbgomes@yahoo.com.br

**Submetido em 13/01/2016; Versão revisada em 14/05/2016; Aceito em 20/05/2016**

## Resumo

Este trabalho avalia as propriedades físico-químicas do doce de cupuaçu industrializado. Para isso, três amostras de três marcas diferentes foram analisadas para os parâmetros de umidade, cinzas, lipídios, proteínas, sólidos solúveis totais, carboidratos e pH, segundo a metodologia descrita pela Norma Técnica do Instituto Adolfo Lutz (2003). Os resultados revelaram que as amostras estão em conformidade com a legislação vigente no parâmetro pH e em desacordo no parâmetro de umidade. Em relação aos outros parâmetros, observam-se divergências dos valores encontrados quando comparados com outros trabalhos da Literatura. Por outro lado, a análise estatística do teste de Tukey mostrou que não há diferenças significativas nas amostras no nível de significância de 5%.

**Palavra-chave:** cupuaçu, doce industrializado, avaliação físico-química.

## Abstract

This study evaluates the physicochemical properties of the industrialized cupuassu candy. For this, three samples of three different brands were analyzed for moisture parameters, ashes, lipids, proteins, total soluble solids, carbohydrates and pH according to the methodology described by the Technical Standard of the Adolfo Lutz Institute (2003). The results showed that the samples are in accordance with established legislation in pH and disagreement parameter in the moisture parameter. For other parameters, there is divergence of values found when compared to other literature results. On the other hand, statistical analysis of the Tukey's test showed no significant differences in the samples at a 5 % significance level.

**Keyword:** cupuassu, sweet industrialized, physicochemical parameters.

## INTRODUÇÃO

De acordo com o estudo realizado por Gondim (2001) que foi publicado no documento nº 67 da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) do Acre em 2001, o cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) é uma baga com formatos variáveis, extremidades obtusas ou arredondadas, odor ativo, sabor agradável e coloração amarela, creme ou branca. As sementes são envoltas pela polpa, dispostas em cinco ou seis fileiras e com formato ovoide-elipsoide. O fruto tem tamanho de 10 a 40 centímetros e peso de 300 gramas a 4 quilogramas distribuído percentualmente em: casca (43%), polpa (38,5%), sementes (16%) e placenta (2,5%).

Essa fruta é de grande importância para a região Amazônica. Pois as partes que a constituem, tais como: polpa, casca e sementes são utilizadas por nativos e pelas indústrias na produção de doces em massa, geleias, gelados comestíveis, néctares, confecção de peças artesanais, adubo, produção de líquido, gordura (chocolate branco e cremes para pele) e torta (“conhagem”) (BUENO, 2002).

Devido ao grande aproveitamento das partes dessa fruta, observa-se nos últimos anos um aumento na sua produção. Segundo a Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC) boa parte dessa produção concentra-se nos Estados do Amazonas, Rondônia, Acre e Pará, no qual o Pará foi o maior produtor. Estima-se que no ano 2000 foram produzidas 21.479 toneladas de polpa em uma área de 14.000 hectares (FILHO, 2015). Para Bastos e colaboradores (2002) a maior parte dessa produção está na cidade de Belém, Marabá e Paraupabas.

Contudo a produção e o cultivo do cupuaçu não estão restrito somente à região Amazônica. De acordo com Lopes (1999), essa produção estende-se também em vários sítios da região sudeste e em outros Estados brasileiros, tais como: São Paulo, Rio de Janeiro (Jardim Botânico e Cidade de Silva Jardim) e Bahia (Escola Média de Agricultura da

região Cacaueira, em Uruçuca).

Enquanto no Estado do Pará houve aumento na produção e cultivo do cupuaçu, no Estado do Amazonas houve uma diminuição. Segundo o Desenvolvimento Agropecuário e Florestal Sustentável do Estado do Amazonas (IDAM) a produtividade nesse Estado caiu de 11.000 para 6.000 hectares nos anos de 2010 para 2011. De acordo com o IDAM essa redução ocorreu devido à alta incidência da broca-do-fruto (*Conotrachelus sp*), à suscetibilidade das plantas, à doença vassoura-de-bruxa e ao manejo inadequado da cultura.

Mesmo com o aumento ou diminuição da produção, o maior aproveitamento industrial está na polpa (RIBEIRO, 1996). Pois estas podem ser produzidas nas épocas de safra, armazenadas e processadas nos períodos mais propícios (BUENO, 2002), congeladas e comercializadas em supermercados, lanchonetes, restaurantes e nas indústrias de gelados para obtenção de sorvetes (SOUZA e PIMENTEL, 1998; AFONSO, 1999).

Apesar da polpa ser muito requisitada, quando não condicionada adequadamente, esta sofre com os processos de deterioração. Uma maneira de conservar o alimento por mais tempo é adicionar açúcar para diminuir a pressão osmótica e impedir o desenvolvimento de microrganismo, permitindo assim a estabilidade (CARVALHO, 2006; MARTINS, 2007).

Em 2005, a Resolução de Diretoria Colegiada, RDC nº 272 fixa a identidade e as características mínimas de qualidade dos produtos de frutas. De acordo com essa resolução, os doces em massa passam a ser incorporados na categoria de produtos oriundos de frutas. Pela nova legislação os “produtos de frutas são elaborados a partir de fruta(s) inteira(s) ou em parte(s) e/ou semente(s), obtidos por secagem e/ou desidratação e/ou laminação e/ou fermentação e/ou concentração e/ou congelamento e/ou outros processos tecnológicos considerados seguros para a produção de alimentos. Podem ser apresentados com ou sem

líquido de cobertura e adicionados de açúcar, sal, tempero, especiaria e/ou outro ingrediente, desde que não descaracterize o produto, podendo ser recobertos” (BRASIL, 2005).

Por outro lado, é necessário que se façam estudos para avaliar a qualidade do cupuaçu, seja na polpa ou nos doces. Diante disso, observa-se na Literatura alguns trabalhos que avaliaram as propriedades físico-químicas, sensorial e microbiológicas em doces e polpas de cupuaçu (LIRA *et al* 2012; LEITE *et al* 2011; FREIRE, PETRUS & FREIRE, 2009). Convém salientar que a avaliação físico-química e sensorial do doce de cupuaçu realizado por Leite e colaboradores (2011) foi aplicada em amostras preparadas em laboratório.

Diante do exposto, este trabalho avalia as propriedades físico-químicas quanto a umidade, cinzas, proteína, lipídios, pH e sólidos solúveis totais do doce industrializado de cupuaçu.

## **PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL**

### **Coleta das amostras**

Três exemplares de cada amostra de doce de cupuaçu artesanal e industrializados foram adquiridos em supermercados e mercados locais (Mercado da praia Grande e Mercado Central) de São Luís - Maranhão. Após as coletas estas foram transportadas para o Laboratório de Análises Físico-Químicas de Alimentos do Programa de Controle de Qualidade de Alimentos e Águas do Pavilhão Tecnológico – UFMA para análises.

### **Análises das amostras**

Os teores de umidade, cinzas, lipídios, proteínas, sólidos solúveis totais e carboidratos foram determinados segundo a metodologia descrita no Manual Técnico do Instituto Adolfo Lutz (2003). De acordo com este Manual, as análises de umidade e cinzas são submetidas ao aquecimento em estufa e mufla com temperaturas de 105°C e 550°C, respectivamente, por 4 h. Em relação a

determinação de lipídios, a metodologia empregada foi a de Soxhlet, enquanto as de proteínas pelo processo de digestão de Kjeldahl. Para determinação dos sólidos solúveis totais empregou-se um refratômetro do modelo Quimis 767-B, sendo os resultados expressos em grau Brix (°Brix). A partir da subtração dos resultados obtidos nas análises de umidade, cinzas, lipídios e proteínas expressos em termos percentuais, calcularam-se os resultados para análise de carboidratos.

O valor do pH, da marca Marte MB-10, foi determinado em potenciômetro de bancada.

### **Análise estatística**

A análise estatística dos resultados obtidos para avaliação físico-química foi realizada por meio do programa PAST, versão 3.0, empregando-se a análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey para comparação de médias entre as amostras industrializadas a 5% de significância.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

As análises físico-químicas das amostras de doce de cupuaçu industrial foram realizadas em triplicatas e os resultados estão descritos na tabela 1.

Comparando-se os resultados obtidos para o valor de umidade com o percentual de umidade descrito pela R.D.C 272/05, observa-se que as três amostras não estão em conformidade, pois os valores estão acima do estabelecido pela legislação. Isso implica afirmar que a concentração de açúcar nos doces está significativamente baixa, uma vez que há relação entre umidade e concentração dos doces. Valores baixos de umidade permitem a proliferação de microrganismo, além de acarretar um menor tempo de conservação.

Em contrapartida, segundo Grizotto, Aguirre e Menezes (2005), teores elevados de umidade indicam ausência da etapa de secagem durante a produção de estruturados. Convém salientar que o

Tabela 1 - Resultado das análises de doce de cupuaçu artesanal e industrial

<b>Parâmetros</b>	<b>Marca A (%)</b>	<b>Marca B (%)</b>	<b>Marca C (%)</b>	<b>Resolução 272/05*</b>
<b>Umidade</b>	27,33 ± 2,886 <sup>a</sup>	27,80 ± 1,311 <sup>a</sup>	27,46 ± 0,907 <sup>a</sup>	12%
<b>Lipídios</b>	0,42 ± 0,006 <sup>a</sup>	0,09 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,42 ± 0,01 <sup>a</sup>	-
<b>Cinzas</b>	0,36 ± 0,015 <sup>a</sup>	0,27 ± 0,010 <sup>b</sup>	0,36 ± 0,020 <sup>a</sup>	-
<b>Proteínas</b>	1,74 ± 0,057 <sup>a</sup>	1,71 ± 0,040 <sup>a</sup>	1,74 ± 0,077 <sup>a</sup>	-
<b>Sólidos solúveis (em °Brix)</b>	61,20 ± 1,417 <sup>a</sup>	61,00 ± 2,000 <sup>a</sup>	60,23 ± 0,351 <sup>a</sup>	-
<b>pH</b>	4,10 ± 0,100 <sup>a</sup>	3,80 ± 0,115 <sup>a</sup>	4,10 ± 0,208 <sup>a</sup>	4,5

Média de três repetições analíticas ± desvio padrão. Médias com mesmo expoente, na mesma linha, não são estatisticamente diferentes ( $p > 0,05$ ) pela ANOVA e teste de Tukey.

Comparando-se os resultados obtidos para o valor de umidade com o percentual de umidade descrito pela R.D.C 272/05, observa-se que as três amostras não estão em conformidade, pois os valores estão acima do estabelecido pela legislação. Isso implica afirmar que a concentração de açúcar nos doces está significativamente baixa, uma vez que há relação entre umidade e concentração dos doces. Valores baixos de umidade permitem a proliferação de microrganismo, além de acarretar um menor tempo de conservação.

Em contrapartida, segundo Grizotto, Aguirre e Menezes (2005), teores elevados de umidade indicam ausência da etapa de secagem durante a produção de estruturados. Convém salientar que o trabalho realizado por esses autores consistiu na análise das polpas estruturadas de abacaxi, manga e mamão.

Outro parâmetro que se relaciona com a umidade é o teor de sólidos solúveis. Segundo Alves e colaboradores (2012), quanto maior o teor desses sólidos, menor será a umidade e vice-versa. Nas amostras analisadas desse trabalho, observou-se que a marca A (61,20%) obteve o maior valor.

Porém, quando comparado com os resultados obtidos por Leite e colaboradores (2011), que foram de 63 a 70%, estes ainda estão baixos.

A justificativa para explicar as divergências nos resultados é dada por Santos e colaboradores (2002). Segundo os autores, o teor de sólidos solúveis pode variar com a intensidade de chuva durante a safra, fatores climáticos, variedade, solo, adição eventual de água durante o processamento por alguns produtores, causando a diminuição dos teores de sólidos solúveis no produto final. Outras causas podem explicar a falta de uniformidade de qualidade das polpas de cupuaçu, tais como descritas na referida Instrução Normativa; por exemplo, processamento inadequado, utilização de mão de obra não qualificada na produção e baixa qualidade da matéria-prima.

A análise de cinzas permite verificar os minerais presentes. Os resultados obtidos para cinzas foram constantes para as marcas A e C (0,36%) e menor para a marca B (0,27%). Estes resultados estão abaixo dos obtidos na polpa de cupuaçu dos trabalhos de Freire e colaboradores (2009) e Lira e Colaboradores (2012) que foram

respectivamente 0,74 e 1,25%. Para Alves e colaboradores (2011), baixos valores na análise de cinzas implicam no maior refinamento das polpas, além de indicar a ausência de adulterantes.

Os valores de lipídios foram constantes para as marcas A e C (0,42%) e menor para marca B (0,09%). Os valores obtidos nesse estudo são semelhantes ao encontrado no trabalho de Brito (2012) no doce de buriti que foi de 0,66%.

Para o pH, observa-se que os valores foram constantes para as marcas A e C (4,1) e menor para marca B (3,8). De acordo com a resolução R.D.C. 272/2005 esses valores estão em conformidade, pois o limite máximo estabelecido é de 4,5. Contudo, o valor ideal é 3,0 a 3,4 para doces. Isso é confirmado por Martins e colaboradores (2007) que menciona que os doces são resultantes do processamento adequado das partes comestíveis das frutas adicionados de açúcares, água, pectina (0,5% a 1,5%) e ajustador de pH (3,0 a 3,4), além de outros ingredientes e aditivos permitidos pela legislação até alcançar a consistência adequada.

Se por um lado os resultados do estudo de pH estão em conformidade com a Resolução, por outro lado diferem quando comparados com outros trabalhos. Os valores obtidos nesse trabalho estão acima dos valores encontrados na polpa do cupuaçu dos trabalhos de Costa e colaboradores (2003) e Freire e colaboradores (2009), pois ambos foram de 3,4.

Com relação às proteínas, as quantidades foram constantes para as marcas A e C (1,74%), e menor para marca B (1,71%). Contudo, os valores obtidos nesse trabalho estão acima dos resultados obtidos por Freire e colaboradores (2011), que foi de 0,76%. Segundo Villachica e colaboradores (1999), a polpa do cupuaçu é pobre em proteínas e gorduras, pois estes apresentam valores que são respectivamente de 1,92 e 0,48%.

Os resultados obtidos a partir do Teste de Tukey com nível de significância de 5% mostrou que não há diferenças significativas nas amostras

analisadas.

## CONCLUSÃO

Levando-se em consideração que os doces de cupuaçu são preparados para conservação maior dos alimentos, observou-se que as amostras analisadas não estão em conformidade com a resolução R.D.C. 272/2005, no que diz respeito a umidade, embora esteja em conformidade com valores obtidos para pH.

Quando comparado com outros trabalhos que avaliaram somente a polpa, observou-se divergências nos parâmetros de sólidos solúveis totais, cinzas e proteínas. Isso mostra que o local de cultivo do fruto, posteriormente a retirada da polpa e as etapas de processamento do doce influenciam nos resultados, embora os doces sejam produzidos a partir da polpa.

## REFERÊNCIAS

- \_\_\_\_\_, Diretoria Colegiada - RDC n. 272, de 22 de setembro de 2005. Regulamento Técnico para Produtos de Vegetais, Produtos de Frutas e Cogumelos Comestíveis. Diário Oficial [da] União. Brasília, DF, n.184, p.374, 23 set. 2005, Seção 1;
- ALVES, M. S.; SANTOS, P. S.; SANTOS, R. B.; OLIVEIRA T. S.; CARVALHO, E. A.; MELO NETO, B. A. *Caracterização físico-química de três marcas comerciais de goiabadas comercializadas no município de Uruçuca - Bahia*. In: VII Congresso Norte Nordeste de Pesquisa e Inovação, Palmas, 2012.
- BRITO, L. F.T; *Avaliação da qualidade físico-química e microbiológica dos doces de buriti de Barreirinhas-Mãe Dom Expedito Lopes –PI*, São Luís. Monografia de graduação da Universidade Estadual do Maranhão, p.53, 2012.
- BUENO, S. M; BASTOS, M. S. R.; GURGEL, T. E. P.; SOUSA, M. S. M. F.; LIMA, I. F. B. *Avaliação da qualidade de polpas de frutas congeladas*. Revista Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, v. 62, n. 2, p. 121-

126, 2002.

CARVALHO, M. G; OLIVEIRA, L.S; Produtos preservados por açúcar: doce em massa. Fortaleza:UFCE,2006;

COSTA, M.C; MAIA, G.A; FILHO, M.S.M.S; FIGUEREDO, R.W; NASSU, R.T; MONTEIRO, J.C.S. *Conservação de polpa de cupuaçu [Theobroma grandiflorum (Willd. Ex Spreng.) Schum] por métodos combinados*. Rev. Bras. Frutic. Jaboticabal, vol.25 n. 2, 2003.

FILHO, G. A. F. *Cultivo do cupuaçuzeiro para o Estado da Bahia*. Disponível em: <<http://www.ceplac.gov.br/radar/cupua%C3%A7uzeiro.htm>> acessado em: 24/10/2015.

FREIRE, M.T.A; PETRUS, R.R; FREIRE, C. M. A. *Caracterização físico-química, sensorial e microbiológica da polpa de cupuaçu congelada (Theobroma grandiflorum schum)*. Braz.J. Food Technol. V.12 n.1 p.09-16, 2009.

GONDIM, T.S; THOMAZINI, M.J; CAVALCANTE, M.J.B; SOUZA, J.M.L. Aspectos da produção de cupuaçu. Rio Branco: EMBRAPA, CCAA, 2001.

GRIZOTTO, R.K.; AGUIRRE, J.M.; MENEZES, H.C. Frutas estruturadas de umidade intermediária obtidas de polpas concentradas de abacaxi, manga e mamão. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v.25, n.1, p.158-164, 2005.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. 3ª ed. São Paulo, 2003.

LEITE, M. F. B; PETRUS, R. R; FREIRE, M. T. A. *Avaliação físico-química e sensorial de doce de cupuaçu (Theobroma grandiflorum Schum)*. Revista higiene alimentar, v. 25, n.194/195, 2011.

LIRA, J. S. S; MELLO, A. A; AZEREDO, D. R. P.

caracterização físico-química da polpa de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum Schum*) congelada. Disponível em: <[ifrrj.edu.br/sites/default/files/webfm/images/Ciências%20Agrárias.pdf](http://ifrrj.edu.br/sites/default/files/webfm/images/Ciências%20Agrárias.pdf)>. Acessado em: 24/10/2015.

LOPES, J. R. M; LUZ, E. D. M. N; BEZERRA, J.L. *Situação atual do cupuaçuzeiro no Sul da Bahia*. Agrotrópica, Ilhéus, v. 11, n.3, p.183-188, set,1999.

MARTINS, M. L. A. et al. *Características de doces em massa de umbu verde e maduro e aceitação pelos consumidores*. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 42, n. 9, 2007.

MARTINS, R; Dossiê Técnico: Doce em pasta e calda. Rio de Janeiro: Redetec-Rede de Tecnologia do Rio de Janeiro,2007;

RIBEIRO, C. C. *Perspectivas de utilização tecnológica da polpa do cupuaçu (Theobroma grandiflorum, Schum.)*. Seminário Internacional sobre pimenta-do-reino e cupuaçu. EMBRAPA-CPATU/JICA: Belém, 1996. (Resumos).

SOUZA, A. C. R.; SILVA, J. B. *Efeito da aplicação de enzimas pectinolíticas no rendimento da extração de polpa de cupuaçu*. Revista Brasileira de Fruticultura. Jaboticabal, SP, v. 24, n. 1, p. 240-242, 2002;

SOUZA, J. M. L.; PIMENTEL, F. A. *Geléia da polpa de cupuaçu congelada*. Acre: Embrapa, 1999. p. 1-3. Disponível em: <<http://www.cpaufac.embrapa.br/pdf/it23.pdf>>. Acesso em: 10 Jan. 2008. Instruções técnicas.

VILLACHICA, H.; CARVALHO, J.E.U.; MÜLLER, C.H.; DIAZ S.C.; ALMANZA, M. *Frutales y hortalizas promisorios de la Amazonia*. Lima: Tratado de Cooperación Amazónica. Secretaria Pro-tempore, 1996. 367p. (TCT-SPT, 44).

# **Influência do pH e da temperatura na produção de pectinases produzidas por uma linhagem de levedura**

*Temperature and pH effect on the activity of pectinase produced by one yeast strain*

**Ana Letícia Silva Coelho<sup>\*1</sup>; Fernanda de Oliveira Tavares<sup>1</sup>; Thiago Lucas de Abreu-Lima<sup>2</sup>; Solange Cristina Carreiro<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Programa de Pós Graduação em Engenharia Química – Universidade Estadual de Maringá*

<sup>2</sup>*Universidade Federal do Tocantins.*

*\*leticia\_alscoelho@hotmail.com*

**Submetido em 07/03/2016; Versão revisada em 09/05/2016; Aceito em 20/05/2016**

## **Resumo**

Enzimas pectinolíticas de origem microbiana tem demonstrado papel importante em processos biotecnológicos, sendo largamente aplicadas na indústria de alimentos, como por exemplo, no processo de extração de óleos e sucos de frutas, na fermentação de café e chá e na produção de vinhos tintos obtendo-se um produto com mais cor e favor e maior estabilidade. Neste contexto, este estudo teve por objetivo avaliar a capacidade de uma linhagem de levedura, isolada de polpa de maracujá, para degradar pectina cítrica em diferentes condições de cultivo. Para isto, foram realizados ensaios, variando-se a temperatura e o pH usando um Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR). A atividade pectinolítica total (TPA) variou de 0,6 a 1,21 U/mL e de 0,68 a 2,8 U/mL, para tempo de incubação de 48 e 96 h, respectivamente. Contudo, as variáveis pH e temperatura, não apresentaram influência ao nível de 10% de significância.

**Palavras chave:** Atividade pectinolítica, pectina cítrica, levedura.

## **Abstract**

Microbial pectinolytic enzymes play an important role in the current biotechnological area, widely used in food industry, with applications such as fruit juice and oil extraction, coffee and tea fermentation, improvement of chromaticity and stability of red wines. Therefore, the aim of this work was to assess the capacity, of one yeasts strain isolated from passion pulp, to degrade citrus pectin in process conditions. These tests were performed varying pH and temperature, using Central Composite Rotatable Design (CCRD). The total pectinolytic activity (TPA) values observed were 0.6 - 1.21 U/mL and 0.68-2.8 U/mL obtained at 48h and 96 h incubation time, respectively. However not any variables showed significant influence over it.

**Keywords:** Pectinase activity, citrus pectin, yeasts.



## INTRODUÇÃO

Durante centenas de anos, os microrganismos foram usados para fornecer produtos diversos como, pães, cerveja, vinho, bebidas destiladas, vinagre, queijos, e outros materiais fermentados. Esses processos foram originalmente desenvolvidos para preservação de frutas, vegetais e leite, mas acabaram culminando na elaboração de produtos sofisticados que atendem ao nosso paladar. Uma segunda fase da biotecnologia surgiu com a primeira Guerra Mundial, que resultou num salto na importância econômica dos microrganismos, especialmente pela produção de glicerol e acetona, utilizados na fabricação de munição. Esses eventos foram seguidos pelo desenvolvimento dos processos fermentativos, de bioconversão e processos enzimáticos (DEMAIN, 2000).

Assim, um dos principais exemplos de processos biotecnológicos industriais, em ascensão, é a obtenção de enzimas, as quais são produzidas, principalmente por microrganismos devido às dificuldades de extração destas enzimas de tecidos animais e vegetais. (CARVALHO, 2012).

As principais vantagens das enzimas de fermentação em relação às de extração são: 1) produção independente injunções sazonais e geográficas; 2) possibilidade de utilização de matérias-primas baratas; 3) os rendimento de produção podem ser maximizados por meio do aprimoramento das linhagens microbianas e otimização das condições de fermentação (SCRIBAN, 1985).

As pectinases formam um grupo de enzimas que degradam substâncias pécticas, pertencentes à família das polissacaridases. São amplamente distribuídas em plantas superiores onde atuam alterando as substâncias pécticas durante os processos naturais de amadurecimento de algumas frutas (CARMO, 2013). Estas enzimas também são produzidas por fungos filamentosos, bactérias e leveduras (UENOJO e PASTORE, 2007) insetos e

nematódeos (CARMO, 2013).

As leveduras são conhecidas por serem os microrganismos com maior capacidade de produzir poligalacturanases. Dentre as diversas espécies de leveduras, *Aureobasidium pullulans* é apontada como aquela que apresenta melhor desempenho na produção de enzimas pécticas, seguindo-se as espécies *Rhodotorula dairenensis* e *Cryptococcus saitoi* (MERÍN *et al.* 2015; SAMAGACI *et al.* 2015).

De acordo com o mecanismo de ação as pectinases são classificadas em: 1) protopectinases, que hidrolisam a protopectina insolúvel originando pectina solúvel, 2) esterases que catalisam a desesterificação da pectina pela remoção dos grupos metoxílicos, e 3) despolimerases que catalisam a clivagem hidrolítica das ligações  $\alpha$  (1,4) das cadeias glicosídicas no ácido D – galacturônico (JAYANI, SAXENA e GUPTA, 2005).

As enzimas pectinolíticas exercem importante papel, podendo ser aplicadas nas indústrias processadoras de suco aumentando a quantidade de suco livre, a estabilização e clarificação dos mesmos, na fabricação de vinhos (obtendo-se um produto com mais cor e flavor, além de maior liberação de compostos fenólicos), alimentos infantis, extração de óleos vegetais, fermentação de chá, café, cacau e fumo, e na indústria têxtil no tratamento de fibras brutas vegetais (RIZZATTO, 2004). Além disso, tais enzimas também podem ser aplicadas no tratamento de resíduos vegetais, decompondo e reciclando os mesmos (BARRÁGAN *et al.* 2014; JAYANI, SAXENA e GUPTA, 2005).

Dentre as vantagens existentes na utilização de enzimas, destacam-se a sua alta especificidade, as condições suaves de reação e a redução de problemas ambientais e toxicológicos. Com relação às vantagens do emprego de enzimas na indústria de alimentos, destacam-se a rapidez de ação, a inexistência de toxidez, a baixa concentração, a atuação sobre um substrato específico e o

desenvolvimento de reações em temperaturas e pH's brandos, que são necessários à manutenção da estrutura desejada e outras propriedades do alimento. As condições brandas de processamento também minimizam o gasto de energia (COELHO, SALGADO e RIBEIRO, 2008; FERREIRA, 2012).

A inibição e estabilidade enzimática constituem um grande desafio em processos biotecnológicos, sendo influenciadas por diversos fatores ambientais, físicos e químicos, tais como pH do meio, temperatura de incubação, fontes de carbono, aeração, concentração de substrato, sistema multienzimas, presença de inibidores /ativadores, tempo de contato dentre outros (BARRAGÁN *et al.* 2014; PEREIRA, 2012).

Assim, o presente trabalho teve por objetivo, avaliar a produção de pectinases, em cultivo submerso por uma linhagem de levedura, verificando-se a influência do pH e da temperatura na atividade das enzimas pectinolíticas.

## Material e Métodos

### Produção de pectinase em cultivo submerso

A linhagem MJ 18 foi selecionada para os ensaios de produção de pectinase por ter demonstrado capacidade de hidrolisar pectina em meio sólido, em ensaios realizados anteriormente. Esta linhagem foi isolada de polpa de maracujá, e faz parte da coleção de culturas do Laboratório de Microbiologia Aplicada, da Universidade Federal do Tocantins (UFT). O pré-inóculo foi obtido em caldo Sabouraud-glicose (5% de glicose), incubado sob agitação a 200 rpm, por 24 h a 28° C.

O inóculo foi centrifugado (10000 g/30 min), o sobrenadante foi desprezado, e a biomassa foi ressuspendida em 10 mL de tampão acetato 0,5 mol.L<sup>-1</sup> em diferentes valores de pH.

A biomassa (1,5 x 10<sup>7</sup> células/mL) de levedura foi inoculada em frascos contendo 100 mL de meio líquido contendo 0,5% de peptona e 5% de pectina cítrica, variando-se pH e temperatura,

segundo planejamento experimental proposto. Os frascos foram incubados em diferentes temperaturas sob condições estáticas utilizando-se banho-maria termostatizado. Para o controle do pH foi utilizado tampão acetato (0,5 mol.L<sup>-1</sup>). Foram retiradas amostras no tempo zero (logo após adição do inóculo) e com 48 e 96 h de incubação. A biomassa foi separada por centrifugação (10000 g/30 min) e o sobrenadante (extrato enzimático bruto) foi armazenado sob refrigeração para ser utilizado nos ensaios de atividade enzimática.

### Efeito das variáveis

Por meio de um Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) com dois fatores e cinco níveis, (com 4 pontos axiais e 3 repetições do ponto central) totalizando 11 ensaios, foram avaliados os efeitos das variáveis pH (3,5 a 5,5) e temperatura (30°C a 50°C) na produção de pectinases. A Tabela 1 mostra as variáveis e faixas analisadas. Para se determinar se houve diferença significativa na atividade pectinolítica em função do pH e da temperatura, foi feita Análise de Variância (ANOVA) a 90% de confiança. Os dados foram analisados através do programa 10.6 Statistica (10) (STATSOFT, 2015).

### Atividade enzimática

A atividade enzimática foi verificada incubando-se 500 µL do extrato enzimático bruto com 500 µL de solução de pectina cítrica (1%, pH 4,5) a 50°C por 30 min, segundo Oikawa *et al.* (1997). Logo após foram adicionados 2 mL de solução de DNS (ácido dinitrossalicílico), a mistura foi mantida em ebulição por 5 min, e em seguida foi resfriada. Foram adicionados 10 mL de água destilada em cada tubo e a absorbância determinada a 540 nm. Uma unidade (U) de pectinase foi considerada como a quantidade de enzima capaz de produzir 1 µmol de açúcar de açúcar redutor por mL por minuto, expresso em ácido galacturônico.

**Tabela 1**

**Valores de pH e temperatura utilizados no planejamento completo para produção de pectinase.**

<b>Níveis</b>	<b>pH</b>	<b>Temperatura</b>
-1,41 (- $\alpha$ )	3,5	30
-1	3,8	33
0	4,5	40
+1	5,2	47
+1,41 (+ $\alpha$ )	5,5	50

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **Atividade Pectinolítica**

Os resultados dos ensaios de atividade enzimática são apresentados na Tabela 2. Para o tempo de incubação de 48 horas, a atividade total de pectinase (TPA) variou de 0,6 U.mL<sup>-1</sup> (ensaio 3, pH 3,8 e T = 47 °C) a 1,21 U.mL<sup>-1</sup> (ensaio 11, pH 4,5 e T =

40 °C). Com 96 h de incubação observou-se um acréscimo na atividade para grande parte dos ensaios (exceção condição experimental 1), sendo os valores mínimo e máximo obtidos de 0,68 U.mL<sup>-1</sup> (ensaio 1, pH 3,8; T = 33 °C) e 2,8 U.mL<sup>-1</sup> (ensaio 2, pH 5,2; T = 33 °C e ensaio 4, pH 5,2; T = 47 °C), respectivamente.

**Tabela 2**

**Resultados da atividade total de pectinase (U/mL) para cada ensaio.**

<b>Ensaio</b>	<b>pH</b>	<b>Temperatura</b>	<b>48 horas de incubação</b>	<b>96 horas de incubação</b>
1	3,8	33	0,76	0,68
2	5,2	33	1,14	2,80
3	3,8	47	0,60	0,84
4	5,2	47	0,83	2,80
5	3,5	40	0,69	2,73
6	5,5	40	0,69	0,92
7	4,5	30	0,66	2,57
8	4,5	50	0,85	0,86
9	4,5	40	0,80	2,28
10	4,5	40	0,92	2,05
11	4,5	40	1,21	2,23

Todavia, conforme a Análise de Variância ( $p < 0,10$ ) não houve diferença significativa nas faixas de pH e temperatura estabelecidas, sendo assim tais parâmetros não influenciaram na atividade enzimática, e a diferença numérica presente pode ser oriunda em função de outras interferências no processo.

De acordo com Oliveira (2015), as leveduras produzem diferentes enzimas pectinolíticas (poligalacturonases, pectina-liases e pectato-liases), sendo a expressão das mesmas decorrente de fatores ambientais como pH, temperatura, concentração de substrato e características genéticas. Neste sentido uma vez que as condições de pH e temperatura avaliadas não foram estatisticamente significativas, pode-se supor que a presença de outros compostos oriundos da hidrólise da pectina presente no meio reacional tenham influenciado o processo, como agentes indutores, justificando a maior atividade enzimática obtida, para grande parte dos ensaios, em um tempo de incubação de 96 horas.

No que concerne à temperatura, os resultados obtidos podem estar relacionados com o que foi observado por Carvalho (2007), o qual ressalta que o extrato bruto enzimático é mais tolerante ao aquecimento do que as enzimas purificadas, sugerindo que fatores proteicos ou impurezas, não identificados, estabilizariam as enzimas contra a desnaturação térmica.

Por conseguinte, o pH é um parâmetro importante na produção e manutenção das pectinases, pois propicia modificações conformacionais no sítio ativo das enzimas, resultando na redução ou aumento da afinidade do mesmo pelo substrato. Além disso, a atividade pectinolítica varia ainda com a estabilidade de cada enzima frente à diferentes valores ou faixas de pH (CARVALHO, 2007). Sandri, Fontana e Silveira, (2014), ao avaliarem a influência do pH na atividade de poligalacturonases produzidas por *Aspergillus fumigatus*, observaram diferentes

comportamentos, conforme a variação do pH no meio reacional, na atuação de endopoligalacturonases (endo-PG) e exopoligalacturonases (exo-PG). Estas mostraram desempenho ótimo na faixa de pH entre 4,0-6,0, enquanto para aquelas as melhores condições foram observadas em pH 4,0 e pH 5,0. Silva e colaboradores (2005), ao analisarem a atividade de enzimas pecticas produzidas a partir de leveduras isoladas de frutos tropicais, obtiveram a predominância de poligalacturonases (PG), sendo a atividade máxima das mesmas obtida em pH 4,5 e 5,5 ( $24,0 \mu\text{mol}$  de ácido poligalacturônico.  $\text{min}^{-1} \cdot \mu\text{g}$  proteína $^{-1}$ ) para as linhagens *Kluyveromyces wickerhamii* e *Kluyveromyces marxianus*, respectivamente.

Ainda conforme, Oskay e Yalçin (2015), PG produzidas por *K. marxianus* apresentaram elevada estabilidade em pH 5,5 a 45°C por um tempo de 50 minutos, observando-se que 100% da atividade enzimática foi mantida. Assim, tal característica corrobora com os resultados obtidos no presente trabalho, sendo possível que as enzimas em estudo apresentem uma condição de atuação ótima dentro de uma faixa de pH, e não um valor pontual, justificando os resultados obtidos.

Ainda neste contexto, segundo Peixoto (2006), estudos mais detalhados com relação à composição dos meios de cultura e de crescimento do inóculo bem como a agitação [...] dentre outros parâmetros, devem ser realizados para otimização da produção de enzima.

Conforme Barragán *et al.* (2015) a atividade de algumas pectinases é dependente da presença de íons  $\text{Ca}^{2+}$ . Por conseguinte, Oliveira *et al.* (2006), mostraram que a secreção de pectinases, é dependente do monossacarídeo que se adiciona ao meio. A secreção de poligalacturonase por células de *Saccharomyces cerevisiae* foi reprimida pela glicose, e induzida por galactose, sendo o mesmo observado em culturas de leveduras, tais como, *Cryptococcus albidus* e *Kluyveromyces marxianus*.

Os estudos de Lima (2006) mostraram que a produção, bem como, a atividade específica de cada enzima pécica, produzida a partir de *Aspergillus tubingensis* (LUC40F4C1), está condicionada à temperatura e ao tempo de cultivo. Para um período de incubação de 96 h, a 25 °C foi observado-se que a atividade de pectinesterases (PE) foi crescente, atingindo 3,91 U.mL<sup>-1</sup>. Apesar do comportamento diferenciado, com oscilações nas atividades, as EndoPG e ExoPG, também apresentaram, para o mesmo período de tempo, os maiores níveis de atividade, 0,2112 U.mL<sup>-1</sup> e 0,2209 U.mL<sup>-1</sup>, respectivamente. A 30 °C todas as enzimas foram produzidas por *Aspergillus tubingensis* (LUC40F4C1), determinando-se em 96 h os maiores níveis de PE (4,16 U.mL<sup>-1</sup>), EndoPG em 72 h (0,3352 U.mL<sup>-1</sup>) enquanto ExoPG, em 48 h (0,3025 U.mL<sup>-1</sup>). Para fermentação conduzida a 40 °C o microrganismo produziu as enzimas durante todo o período de crescimento. As atividades máximas de PE, Exo-PG foram verificadas em 48 h, sendo 1,96 U.mL<sup>-1</sup> e 0,1554 U.mL<sup>-1</sup>, respectivamente. A Endo-PG mostrou maior atividade em 24 h, 0,1447 U.mL<sup>-1</sup>.

Cabe salientar, que os dados obtidos no presente trabalho mostram um interessante potencial da linhagem MJ 18 para a produção de pectinase, quando os mesmos são comparados com dados da literatura. Oskay e Yalçin (2015) analisaram a produção de pectinases em cultivo submerso, por uma linhagem de levedura (*Kluyveromyces marxianus* NRRL-Y-1109), sendo avaliada a influência dos parâmetros pH (3,5 -7), temperatura (20-45 °C) e tempo de incubação. Nas condições ótimas de fermentação (pH 6; T= 30 °C e tempo de incubação de 48 h) a cepa em estudo apresentou atividade pectinolítica de 4,8 U.mL<sup>-1</sup>; 2,2 U.mL<sup>-1</sup> e 1,8 U.mL<sup>-1</sup>, para meio contendo pectina cítrica, farelo de trigo e resíduos de uva, respectivamente.

Ao analisar a produção de poligalacturanases por linhagens de leveduras selvagens isoladas de sementes de cacau,

Semagaci *et al.* (2015), alcançaram uma atividade máxima de 3,75 U.mL<sup>-1</sup>. As cepas em estudo mostraram comportamento diferente frente às variações de pH e temperatura. As linhagens YS165 e YS201 apresentaram máxima produção de pectinases a 30 °C em pH 6,0, observando-se redução na síntese enzimática na faixa de temperatura de 35 a 40 °C e pH 8,0. Comportamento adverso foi obtido para as linhagens YS 128 e YS 202, sendo a máxima atividade enzimática obtida a 35 °C em pH 5, as leveduras mostraram perda na capacidade de produção das enzimas em pH alcalino, em torno de 7,0.

Piemolini-Barreto, Antônio e Echeverrigaray (2015), estudaram a atividade pectinolítica de *Kluyveromyces marxianus* NRRL-Y-7571 na produção de suco, como função do pH e da temperatura, e obtiveram atividade ótima em pH 4,8. A linhagem em estudo apresentou 80% da máxima atividade quando submetida a faixa de pH entre 4,4-5,2. Em condições mais ácidas (pH 3,2-3,6) a atividade de *K. marxianus* NRRL-Y-7571 foi 70% do valor obtido na condição ótima. No que concerne à temperatura, a máxima atividade foi obtida a 40 °C, sendo observada uma boa atividade na faixa de 30-40 °C.

Barragán *et al.* (2015) afirmam ainda que a condição de temperatura ideal para produção de pectinase por cepas de *Bacillus*, por exemplo, está relacionada com a espécie do referido microrganismo. Para *Bacillus spp.* a temperatura ótima para produção e atividade de enzimas pécicas está entre 50 e 60 °C, para as espécies *Bacillus stearothermophilus*, tal valor é de 60 °C, enquanto para as espécies *Bacillus cereus* e *Bacillus subtilis* a temperatura ótima encontra-se em torno de 50 °C. Conforme Piemolini-Barreto, Antônio e Echeverrigaray (2015), o pH ótimo para produção e atividade de pectinases pode ser influenciado pelo tipo de substrato utilizado no cultivo, além da temperatura e concentração de coenzimas.

Rossi *et al.* (2015), ressaltam que parâmetros como concentração de substrato, pH e temperatura influenciam na ação de pectinases obtidas a partir de *Aspergillus oryzae* IPT-301. Os três parâmetros atuam interferindo na velocidade da reação, enquanto os dois últimos influenciam diretamente na estabilidade do complexo pectinolítico.

Apesar das variáveis pH e temperatura não demonstrarem influência significativa na atividade de pectinases produzidas pela linhagem MJ 18, observou-se que a TPA de 2,8 U.mL<sup>-1</sup> foi obtida para pH 5,2 nas temperaturas 33 °C e 47 °C. Semagaci *et al.* (2015), ao estudar a atividade de pectinases, obtidas a partir de leveduras, destacaram que a cepa YS 201 foi a única capaz de produzir pectinases para faixa de pH 3,0 – 6,0, mostrando a capacidade de atuação da mesma em uma ampla faixa de pH. Tais características são favoráveis, por exemplo, em pesquisas direcionadas à produção de produtos alimentícios uma vez que durante o processamento dos mesmos observa-se uma faixa de operação para tais parâmetros e não apenas o valor estabelecido na condição ótima. Ademais, a atividade pectinolítica da linhagem MJ 18, pode ser avaliada em outras faixas de pH e temperatura, como também em relação a outros parâmetros, tais como fonte de nitrogênio e carbono, *stress* osmótico, capacidade de atuação frente a variados teores de etanol.

## CONCLUSÕES

A linhagem MJ 18 demonstrou capacidade de secretar enzimas pécticas extracelulares, as quais apresentaram potencial para hidrolisar pectina cítrica em meio líquido em todas as faixas de pH e temperatura propostas, segundo planejamento experimental.

As variáveis utilizadas nos experimentos da avaliação da atividade pectinolítica, pH e temperatura, não foram significantes para as faixas

estudadas.

A partir do presente trabalho, verificou-se que a linhagem MJ 18 é uma fonte promissora para produção de enzimas pécticas, uma vez que a produção das mesmas foi realizada em curto período de tempo e em meio de fermentação simples, demonstrando assim potencial para aplicações de interesse biotecnológico e industrial. Além disso, outras faixas de pH e temperatura podem ser avaliadas, podendo-se ainda manter outras variáveis em estudo.

## AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com o apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPQ- Brasil.

## REFERÊNCIAS

- BARRAGÁN, J. C. A; ZERPA, S. A. I; CASTILLO, M. L. S; HARO, I. M. R; GUTIÉRREZ, W. N. A; ÁLVAREZ, F. O. G. Efecto de la temperatura y pH sobre la actividad y estabilidad de pectinasas producidas por *Bacillus spp.* **Ver. Cient. Facul. Cienc. Biol**, Trujillo, v. 34, n.01, p.33-41, jan-jun. 2014.
- CARMO, J. R. **Produção de etanol e pectinase por *Kluveromyces marxianus* CCT4086 utilizando resíduos do processamento do café (*Coffea arabica* L.)** 2013. 254f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.
- CARVALHO, F. P. **Enzimas celulolíticas e xilanolíticas de leveduras isoladas do cerrado mineiro.** 2012. 119f. Tese (Doutorado em Microbiologia Agrícola) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2012.
- CARVALHO. S. **Pectinases produzidas pelo agente biológico “G088” extração e purificação.** 2007. 113f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos

Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2007.

COELHO, M. A. Z; SALGADO, A. M; RIBEIRO, B. D. **Tecnologia enzimática**. Rio de Janeiro : FAPERJ, 2008.

DEMAIN A. L. Small bugs, big business: the economic powder of the microbe. **Biotechnol. Adv**, s.l, v.18, p.499-514, 2000.

FERREIRA, S. M. **Modificação enzimática da farinha de grãos quebrados de arroz para produção de alimento sem glúten**. 2012. 169f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Goiás, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2012.

JAYANI, R. S; SAXENA, S; GUPTA, R. Microbial pectinolytic enzymes: a review. **Process Biochem**, s.l, v.40, p.2931-2944, mar. 2005.

LIMA, A. R. S. **Produção de pectinases por *Aspergillus* e clarificação de suco de Camu-Camu com poligalacturonases e pectinesterases**. 2006. 85f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2006.

MERÍN, M. G; MARTÍN, M. C; RANTSIOU, K; COCOLIN, L; AMBROSINI, V. I. M. Characterization of pectinase activity for enology from yeasts occurring in Argentine Bonarda grape. **Braz. J. Microbiol**, s.l, v.46, n. 03, p.815-823, 2015.

OIKAWA, T; KAMATANI, T; KAIMURA, T; AMEYAMA, M; SODA, K. Endo -glucanase from *Acetobacter xilynum*: purification and characterization. **Curr. Microbiol**, s.l, v.34, n. 05, p.309-313, 1997.

OLIVEIRA, M. P. M. **Seleção de leveduras pectinolíticas para melhoria da fermentação do cacau**. 2015. 67f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2015.

OLIVEIRA, K. F; MALAVOLTA, L; SOUZA, C. S; VICENTE, E. J; LALUCE, C. Pectinolytic activity

secreted by yeasts isolated from fermented citrus molasses. **J. Appl. Microbiol**, s.l, v.100, n. 04, p.633-640, 2006.

OSKAY, M; YALÇIN, H. T. Screening of yeast strains for pectinolytic activity: effects of different carbon and nitrogen sources in submerged fermentations. **OnLine J. Biol. Sci**, s.l, v.15, n. 03, p.89-96, jul. 2015.

PEIXOTO, A. B. **Estudo da produção de enzimas e gomas por leveduras selvagens coletadas em diversas regiões do Brasil**. 2006. 99f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.

PEREIRA, V. M. **Avaliação do potencial enzimático de fungos filamentosos e otimização da produção de celulasas por *Aspergillus sulphureus* (Fresen) Wehmer**. 2012. 112f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2012.

PIEMOLINI-BARRETO, L. T; ANTÔNIO, R. V; ECHEVERRIGARAY, S. Comparison of a pectinolytic extract of *Kluyveromyces marxianus* and a commercial enzyme preparation in the production of Ives (*Vitis labrusca*) grape juice. **World J. Microbiol. Biotechnol**, s.l, v. 31, p.755-762, 2015.

RIZZATTO, M. L. **Estudo da produção de pectinases em reator de coluna por fermentação semi-sólida de bagaço de laranja industrializado**. 2004. 253f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

ROSSI, C; POZZA, A; NEGRI, F; REGINTTO, C; MENEGUEL, L; MALVESSI, E; SILVEIRA, M. M. Caracterização de extrato pectinolítico produzido por *Aspergillus oryzae* IPT-301. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica, n. 11, Campinas. **Blucher Chemical Engineering Proceedings**, 2015, p.953-958.

SAMAGACI, L; OUATTARA, H. G; GOUALIÉ, B. G; NIAMKE, S. L. Polyphasic analysis of pectinolytic and stress-resistant yeast strains isolated from Ivorian cocoa fermentation. **J. Food Res**, s.l, v.4, n. 01, p.124-134, 2015.

SANDRI, I. G; FONTANA, R. C; SILVEIRA, M. M. Influence of pH and temperature on the production of polygalacturonases by *Aspergillus fumigatus*. **LWT-- Food Sci. Technol.**, s.l, v.61, p.430-436, 2015.

SCRIBAN, R. **Biotecnologia**. São Paulo: Manole, 1985.

SILVA, E. G; BORGES, M. F; MEDINA, C; PICCOLI, R. H; SCHWAN, R. F. Pectinolytic enzymes secreted by yeasts from tropical fruits. **FEMS Yeast Res.**, s.l, v.5, p.859-865, 2005.

STATISTICA 10.6, version 10. Disponível em:<<http://www.statsoft.com>>. Acessado em 14 fev. 2016.

UENOJO, M; PASTORE, G. M. Pectinases: aplicações industriais e perspectivas. **Quím. Nova**, s.l, v.30, n. 02, p.388-394, 2007.



# NOVAS NORMAS PARA SUBMISSÃO DE ARTIGOS À REVISTA DE QUÍMICA INDUSTRIAL

(aprovadas pelo Conselho Editorial em 14 de setembro de 2014)

A Revista de Química Industrial (RQI) publica artigos técnico-científicos relacionados à área industrial e à pesquisa, desenvolvimento e inovação (P&D&I), inclusive o desenvolvimento de técnicas analíticas. Também publica resenhas de livros e outros tópicos das áreas de engenharia química e da química industrial.

Serão aceitos estudos de caso quando contribuírem para aumentar o entendimento acerca de aspectos como riscos à saúde, impactos ambientais, ecoeficiência, emprego de novos materiais etc.

São também bem-vindos artigos versando sobre Educação e História da Química que estabeleçam um elo com a área industrial.

## INSTRUÇÕES GERAIS

a) A submissão de um artigo à RQI implica que ele não foi previamente publicado, salvo na forma de resumo ou parte de um trabalho acadêmico (monografia, dissertação, tese), não está sendo submetido simultaneamente a outra revista e não será submetido futuramente, caso aceite para publicação na RQI. Subentende-se que o autor responsável pela submissão tem o consentimento dos demais coautores e das respectivas instituições a que pertençam. Os autores ficam desde já cientes de que todos os direitos autorais do artigo submetido pertencerão à Associação Brasileira de Química, caso o mesmo seja aceite para publicação.

b) Os artigos poderão ser escritos em Português ou Inglês. No caso de artigos em língua inglesa, o texto que não possuir qualidade mínima apropriada a uma publicação em periódico será devolvido aos autores.

c) Todos os artigos devem ser digitados em fonte Arial corpo 11, espaçamento 1,5 entre linhas, margens 2,5 cm e alinhamento justificado. O arquivo deve estar em um dos formatos .doc, .docx ou .rtf e não pode conter qualquer tipo de marcação.

d) A primeira página deverá conter na parte superior o título do artigo (em português e inglês), os nomes completos dos autores e suas respectivas instituições de vínculo (nome e endereço completo, incluindo cidade, estado e país). O autor responsável pelo artigo deve incluir um e-mail de contato. A seguir, deverá constar o resumo, limitado a 150 palavras, três palavras-chave (separadas por vírgulas) e a tradução de ambos para a língua inglesa (abstract, keywords). O resumo deve citar sucintamente o propósito do artigo, os resultados mais relevantes e as conclusões principais.

e) Os artigos submetidos devem enquadrar-se em uma das categorias abaixo:

**Artigo completo:** refere-se a estudos completos e inéditos. Deve ser estruturado de acordo com a ordem: Introdução - Materiais e métodos - Resultados e discussão – Conclusões – Agradecimentos - Referências.

**Comunicação:** também se refere a estudo inédito, mas com uma quantidade reduzida de dados experimentais que, contudo, possuem impacto significativo para justificar uma publicação.

**Nota técnica:** seção destinada à divulgação de métodos analíticos, técnicas laboratoriais ou industriais e aparelhagens desenvolvidas pelos autores do artigo. Deve seguir a mesma estrutura apresentada para os artigos completos.

**Revisão:** serve à divulgação do estado da arte de uma determinada área da química pertinente ao escopo da RQI.

**Opinião:** pesquisadores e profissionais renomados de uma determinada área da química abrangida pela RQI podem, a exclusivo convite do Editor, ser convidados a redigir um artigo versando sobre pontos específicos de suas áreas, tais como: política industrial, perspectivas econômicas, mercado de trabalho, investimentos em P&D&I etc.

Para a preparação de seu artigo, a íntegra das normas de submissão pode ser consultada acessando <http://www.abq.org.br/rqi/instrucoes-para-submissao-de-artigos-tecnicos-cientificos.html>.