

Área: Engenharia de Alimentos

ESTUDO DO EFEITO DA CONCENTRAÇÕES DE SAIS E PECTINA CÍTRICA NO MEIO REACIONAL DA MEDIDA DE ATIVIDADE DA PECTINA METILESTERASE

Jonaina Gomes, Eunice Valduga, Geciane Toniazzo, Jamile Zeni e Cindy Elena
Bustamante Vargas*

Laboratório de Biotecnologia de Alimentos, Curso de Engenharia de Alimentos, Departamento de Engenharia de Alimentos, URI – Campus de Erechim, Erechim, RS

**E-mail: cindyelena506@hotmail.com*

RESUMO – A pectinametilesterase (PME) é uma enzima do grupo das pectinases que remove grupos metoxil da pectina resultando na formação de um intermediário substrato-enzima com a liberação de metanol. Este estudo tem objetivo determinar a melhor concentração de sal e pectina cítrica a ser usada no meio reacional para a obtenção de maior atividade da PME. Foram utilizados nos experimentos os sais NaCl, CaCl₂ e a interação NaCl/CaCl₂, em concentrações que variaram de 0,02 a 1M, após foi avaliado a concentração do substrato pectina cítrica na faixa de 0,5 a 2%, permitindo assim realizar a medida de atividade de PME de forma mais otimizada.

Palavras-chave: *Aspergillus niger* ATCC 9642, pectinametilesterase, otimização da medida atividade.

1 INTRODUÇÃO

Enzimas são substâncias biocatalizadoras complexas extremamente eficientes e altamente específicas, sintetizadas no interior das células vivas, mas que também exercem atividade fora delas. Como grande parte das proteínas sintetizadas são enzimas intracelulares citoplasmáticas, estas são obtidas e avaliadas somente através do rompimento da estrutura celular (HOONDAL *et al.*, 2002).

A pectinametilesterase remove grupos metoxil da pectina por um ataque nucleofílico da enzima no éster metílico, resultando na formação de um intermediário substrato-enzima com o lançamento de um metanol (VORAGEN, BELMAN & SCHOLS, 2001).

São produzidas pela maioria das plantas superiores, por fungos filamentosos, por algumas bactérias e leveduras. O uso de celulasas, hemicelulasas e pectinases têm aumentado consideravelmente, especialmente nas indústrias de alimentos, bebidas e vinhos, têxtil, papel e celulose. Por volta de 1930 as pectinases foram uma das primeiras

enzimas a serem utilizadas comercialmente nas preparações de vinhos e sucos de frutas (KASHYAP *et al.*, 2000). Neste sentido, o objetivo dos experimentos foi determinar qual a melhor concentração de sal e pectina cítrica a ser usada no meio reacional para maior atividade da PME.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Bioprodução de Pectinametilsterase (PME)

A cepa do *Aspergillus niger* ATCC 9642 foi utilizada na bioprodução da pectinametilsterase, nas condições otimizadas de 30°C, 180 rpm, pH_{inicial} 5,5 e 5×10^6 esporos/mL durante 72 horas em meio composto por 42 g/L pectina cítrica, 8,0 g/L fosfato de potássio e 1 g/L sulfato de magnésio (GOMES, 2010).

2.2 Efeito da concentrações de sais no meio reacional da medida de atividade da pectinametilsterase (PME)

O experimento foi realizado objetivando determinar qual a melhor concentração de sais (NaCl, CaCl₂ e NaCl/CaCl₂) no meio reacional para proporcionar um incremento na atividade de pectinametilsterase.

As concentrações de sais testadas foram de 0,02 a 1M com concentração de pectina cítrica fixa em 1% (m/v). A associação dos sais NaCl/CaCl₂ foi realizada na proporção de 1:1 (m/v) em todas as concentrações.

2.3 Efeito da concentração de pectina no meio reacional da medida de atividade da PME

O estudo dos efeitos da concentração de pectina cítrica no meio reacional (NaCl 0,75M) da medida de atividade da PME foi realizado variando a concentração de pectina cítrica (0,5; 1,0; 1,5 e 2,0%) como substrato.

2.4 Determinação da Atividade Enzimática da Pectinametilsterase (PME)

O extrato enzimático bruto utilizado para a medida de atividade foi obtido nas condições experimentais maximizadas de produção conforme descrito no item 2.1.

A medida de atividade da pectinametilsterase foi conduzida segundo metodologia descrita por Hultin *et al.*, (1966) com modificações. Uma unidade de pectinametilsterase é definida como a quantidade de enzima capaz de catalisar a desmetilação de pectina correspondente ao consumo de 1 nmol de NaOH nmol/minmL, nas condições do ensaio.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

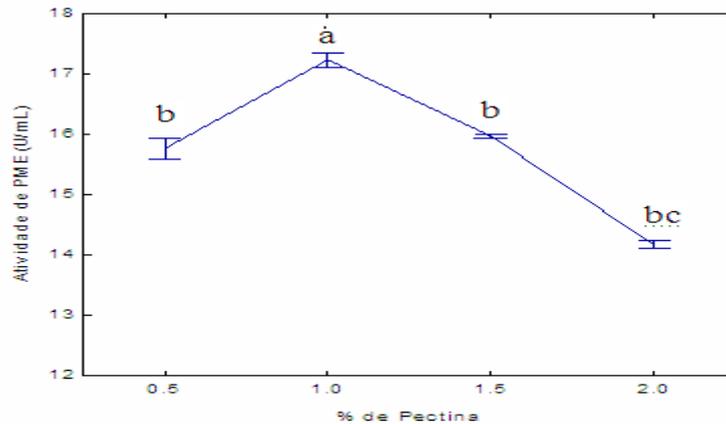
As concentrações dos sais NaCl, CaCl₂ e a interação NaCl/CaCl₂ variaram de 0,02 a 1M conforme Tabela 1, onde verificou-se que quando empregado o sal CaCl₂ foi obtida a maior atividade de pectinametilsterase de 17,7 U/mL na concentração de 0,75M. Para avaliar os efeitos da variação da concentração de pectina cítrica de 0,5 a 1%, fixou-se a concentração do sal CaCl₂ a 0,75M na mesma condição de leitura. De acordo com os resultados apresentados na Figura 1, observa-se que a concentração de 1% de pectina cítrica apresenta as maiores atividades de pectinametilsterase.

Tabela 1. Atividade da pectinametilsterase em diferentes concentrações de sais NaCl, CaCl₂ e a interação NaCl/CaCl₂.

Concentrações de Sais (M)	NaCl	CaCl ₂	NaCl+CaCl ₂
0,02	10,4±0,5 ^{cC}	11,45±0,05 ^{fA}	11,16±0,11 ^{hB}
0,04	11,16±0,11 ^{bB}	12,23±0,25 ^{eA}	12,16±0,20 ^{fA}
0,06	11,06±0,11 ^{bB}	12,30±0,20 ^{eA}	12,35±0,05 ^{fA}
0,08	10,60±0,17 ^{cC}	12,85±0,05 ^{eA}	11,70±0,10 ^{gB}
0,1	11,06±0,23 ^{bB}	12,50±0,17 ^{eA}	12,73±0,15 ^{fA}
0,15	11,23±0,15 ^{bC}	14,93±0,25 ^{dA}	13,96±0,15 ^{eB}
0,2	11,10±0,17 ^{bC}	15,60±0,2 ^{cA}	14,93±0,15 ^{dB}
0,25	11,65±0,15 ^{bC}	14,40±0,17 ^{dB}	15,50±0,17 ^{cA}
0,3	11,23±0,11 ^{bC}	15,63±0,28 ^{cA}	14,70±0,20 ^{dB}
0,4	11,50±0 ^{bC}	15,93±0,25 ^{cA}	15,43±0,05 ^{cB}
0,5	11,06±0,20 ^{bC}	16,80±0,30 ^{bA}	16,16±0,20 ^{bB}
0,75	12,36±0,23 ^{aC}	17,70±0,20 ^{aA}	17,16±0,05 ^{aB}
1	10,13±0,15 ^{cC}	14,23±0,20 ^{dA}	13,10±0,10 ^{fB}

*Valores de atividade de pectinametilsterase (U/mL) ± desvio padrão seguido de letras minúsculas/maiúsculas iguais nas colunas/linhas indicam não haver diferença significativa a nível de 5%.

Figura 1. Determinação da atividade da pectinametilesterase avaliando diferentes concentrações de pectina cítrica no meio reacional.



4 CONCLUSÃO

Este trabalho permitiu concluir que o melhor tipo de sal e concentração para a determinação da medida de atividade de pectinametilesterase é o sal NaCl na concentração de 0,75M com atividade de 17,7 U/mL e que a melhor concentração de pectina é de 0,5%.

5 AGRADECIMENTOS

Agradecemos a CAPES, CNPq, FAPERGS e URI Erechim, pelo apoio financeiro e estrutura de pesquisa.

6 REFERÊNCIAS

- BHAT, M. K. Cellulases and related enzymes in biotechnology, **Biotechnology Advances**, v.18, p. 355-383, 2000.
- GOMES, J. **Produção de poligalacturonase por fermentação submersa utilizando *Aspergillus niger* ATCC 9642 em meio sintético**, 2010 - Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI, Campus de Erechim, Brasil.
- HOONDAL, G.; TIWARI, RP.; TIWARI, R.; DAHIYA, N.; BEG, K. Microbial alkaline pectinases and their applications: a review, **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 59, n. 4-5, p. 409-418, 2002.
- HULTIN, H.O.; SAM, B.; BULGER, J. Pectin methyl esterase of the banana: purification and properties. **Journal of Food Science**, v.31, n.3, p.320-327, 1966.

-
- KASHYAP, DR.; VOHRA, PK.; TEWARI, R. Application of pectinases in the commercial sector: a review, **Bioresource Technology**, v. 77, p. 215-227, 2001.
- VORAGEM, F.; BELDMAN, G.; SCHOLS, H. **Chemistry and enzymology of pectins**. In: McCleary, V.; Prosky, L., Edtors, 2001. *Advanced dietary fibre technology*, Blackwell Science, London, p.379-398, 2001.