



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA**

Autorizada pelo Decreto Federal nº 77.496 de 27/04/76  
Recredenciamento pelo Decreto nº 17.228 de 25/11/2016



**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**  
**COORDENAÇÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA**

## **XXIII SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UEFS SEMANA NACIONAL DE CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA - 2019**

### **PRODUÇÃO DE ENZIMAS POR FUNGOS ISOLADOS DAS FOLHAS, FRUTOS E ÁRVORES DO LICURI**

**Sabrina Sampaio Nunes Bezerra<sup>1</sup> e Andrea Limoeiro<sup>2</sup>**

1. Bolsista PROBIC/UEFS, Graduanda em Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: [sabrinasnzb@gmail.com](mailto:sabrinasnzb@gmail.com)
2. Orientador, Departamento de Andrea Limoeiro Carvalho, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: [limoeiro@uefs.br](mailto:limoeiro@uefs.br)

**PALAVRAS-CHAVE:** Enzimas, fungos, licuri.

#### **INTRODUÇÃO**

O Licuri é uma palmeira nativa do território brasileiro, sendo seu nome científico (*Syagrus coronata* (Martius) Beccari). As amêndoas do licuri têm em sua constituição lipídios, proteínas, carboidratos e minerais (CREPALDI et al., 2001). Com esse valor nutricional favorável ao crescimento microbiano, o Licuri poderia ter seu aproveitamento em processos fermentativos, como a produção de enzimas. As enzimas apresentam algumas propriedades que tornam o seu uso altamente desejável como catalisadores, em razão da sua grande especificidade. Dentre as enzimas de interesse alimentício podem-se citar as pectinases e as lipases. A fermentação em estado sólido (FES) em relação a fermentação em estado submerso (FSm), têm apresentado características melhores e melhor rendimento para produção de enzimas, com vantagens como: alta concentração do produto final, custos a jusante mais baixos, utilização de substrato sólido, alta concentração de substratos de crescimento, menor demanda de esterilidade, simulação do ambiente natural, melhor desempenho de micro-organismos cultivados, fermentação de substratos sólidos insolúveis em água, produtividade em alto volume, volumes menores de fermentador, aeração fácil, fontes de carbono baratas e abundantes (HOLKER U.; HOFER, M.; LENZ, J, 2004). O presente projeto avaliou o fungo *Aspergillus niger* quanto à sua capacidade de produzir enzimas, como lipases, amilases e pectinases e celulase, por exemplo, em fermentação semissólida, a partir da torta de licuri.

#### **METODOLOGIA**

##### **1. Experimental**

As fermentações foram realizadas em Erlenmeyers de 250 mL contendo 5 g de meio composto por torta de licuri, casca de licuri, farelo de trigo, solução nutriente e solução tampão, a relação de massa dos componentes do meio sólido variou de acordo o Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR), variando o pH entre 3 e 9, a umidade entre 29% e 67%, e a proporção de TL/FT, entre 0/70 e 70/0 (%). Em meio sólido estéril foi adicionado 1 mL de inóculo fúngico, obtido do sobrenadante nas

placas após a adição do tampão, de acordo com a metodologia de Umsza-Guez (2009) adaptada, e este foi fermentado a temperatura ambiente em estufa por 24, 48, 72 e 96h.

## 2. Quantificação das atividades enzimáticas

O extrato enzimático foi obtido pela adição de água na proporção de 10x a massa de meio. Em seguida procedeu-se a determinação da atividade de lipase de acordo com a metodologia usada por Bonine (2001). A atividade de pectinase, de amilase e de celulase, por sua vez, foi determinada segundo Umsza-Guez (2009).

## RESULTADOS E/OU DISCUSSÃO

A atividade enzimática da amilase é representada no gráfico da Figura 1, onde mostra com clareza que em aspectos gerais a produção da amilase aumenta com o tempo de incubação. A elevação após 48 horas pode ser devido ao consumo do açúcar gerado até então, causando esgotamento de substrato e reativando o mecanismo de expressão da enzima (CRUZ et al, 2011). Em 96 horas, os experimentos continuaram a apresentar aumento da atividade, exceto E14, E16 e E18 que começaram a mostrar redução na atividade, possivelmente por esgotamento de nutrientes ou por acúmulo de produtos inibidores da síntese enzimática ou do crescimento celular.

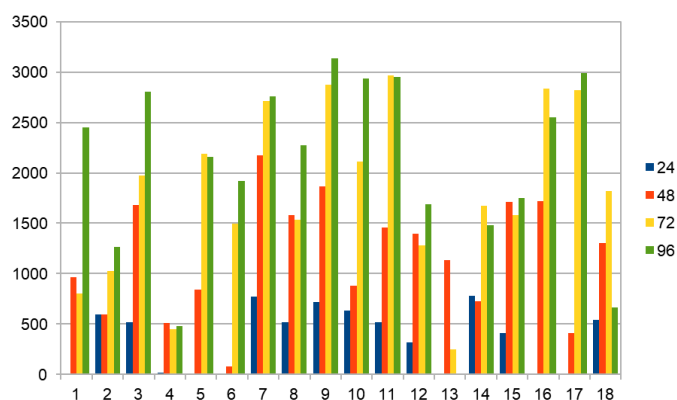


Figura 1-Atividade da amilase com o tempo

Por meio da análise da ANOVA para amilase verificou-se que a atividade enzimática da amilase em 24h não foi significativa ( $p < 0,1$ ). Em 48h houve um efeito significativo da umidade na produção enzimática, com coeficiente de correlação  $R^2$  igual a 60,34%. Já em 72h tanto a umidade quanto o pH linear e quadrático se mostraram significativos, com valor de  $R^2$  72,79%. Em 96h apenas o pH quadrático apresentou significância e  $R^2$  igual a 68,45%. Valores de coeficientes de determinação acima de 60% são considerados aceitáveis para processos fermentativos, portanto, foi analisada a resposta produção de amilase para tempos superiores a 48h.

A região de otimização pode ser observada nas curvas de contorno para os experimentos com incubação de 72h, onde o máximo da atividade enzimática da amilase se encontra em -1,47 de umidade e pH 0,63, codificados. Os pontos reais foram obtidos por interpolação com os valores correspondentes. Sendo assim, os valores reais de maximização da produção da amilase foi 31,38% de umidade e pH 7,13, obtendo a atividade de amilase estimada acima de 3000  $\mu\text{mol/g}$ , podendo variar entre 29,0% e 32,62% de umidade e pH entre 6,18 e 7,85.

Semelhante a amilase, os resultados experimentais para atividade de pectinase se mostraram satisfatórios no período de 72h com  $R^2 = 80\%$  e posteriormente houve uma

queda da produção. Nesse período, o valor do pH e a proporção TL/FT tiveram efeito significativo na atividade enzimática da pectinase. A Figura 3 mostra o valor de pH e a proporção de meio com efeito quadrático negativo sobre a atividade enzimática da pectinase.

É possível observar uma região ótima em pH 0,21 e 0,42 de TL/FT em valores codificados. Por meio de interpolação foi possível obter os seguintes valores reais: pH 6,38 e 33/67% de TL/FT, sendo mais favorável para o aumento da atividade enzimática a região de maior proporção de farelo de trigo (cerca 67% de FT). Nessa região ocorre a maior produção enzimática acima de 40  $\mu\text{mol/g}$ , podendo variar entre 31/69% e 57/43% de proporção TL/FT e pH entre 5,44 e 7,30.

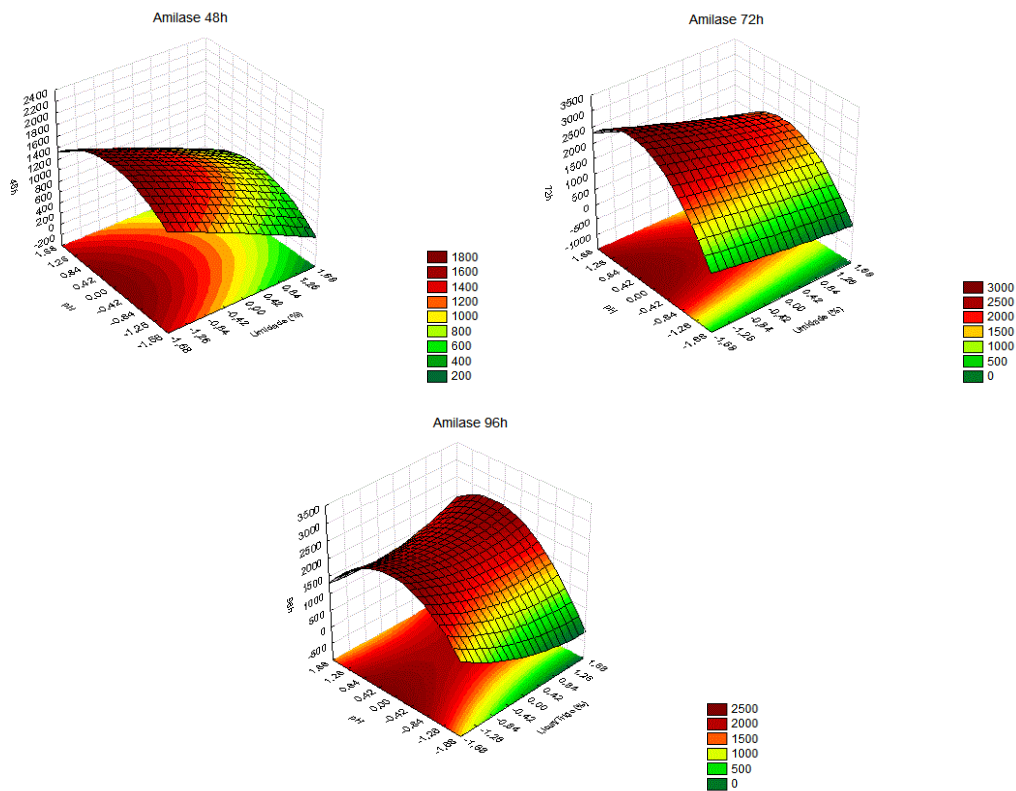


Figura 2- superfície de resposta para avaliação da atividade enzimática da amilase em 48h como função das variáveis pH e umidade(a); superfície de resposta para avaliação da atividade enzimática da amilase em 72h como função das variáveis pH e umidade(b); superfície de resposta para avaliação da atividade enzimática da amilase em 96h como função das variáveis pH e TL/FT.

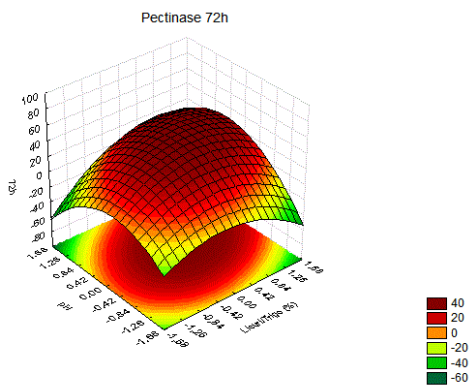


Figura 3- Superfície de resposta para avaliação da atividade enzimática da pectinase em 72h como função das variáveis pH e TL/FT. A ANOVA para atividade de celulase mostrou que não houve interações significativas entre as variáveis nos períodos de incubação de 48h e 96h ( $p < 0,1$ ). As médias

estatísticas obtidas para cada período de 24, 48, 72 e 96h foram, respectivamente, 271,76  $\mu\text{mol/g}$ , 654,52  $\mu\text{mol/g}$ , 894,13  $\mu\text{mol/g}$ , 1261,28  $\mu\text{mol/g}$ . De forma geral, para cada experimento, a medida que avança o período de fermentação ocorre uma maior produção enzimática.

Apesar da proporção TL/FT, em 24h, apresentar uma significância com efeito linear negativo, isto não é relevante, considerando-se que os maiores valores de atividade foram encontrados em 96h de fermentação.

Na análise da atividade de lipase observou-se uma tendência de maior produtividade a 96h. A produção de lipase mínima e máxima obtida no presente estudo a 96h de fermentação foram, respectivamente, 71,73  $\mu\text{mol/g}$  e 505,82  $\mu\text{mol/g}$ . Como os valores dos coeficientes de determinação para as variáveis de avaliação da atividade de celulase foram muito baixos para o tempo de 96h de fermentação, que apresentou maior média, pode-se concluir que para esse estudo qualquer condição escolhida é satisfatória e que uma produção elevada pode ser obtida em 96h de fermentação.

### CONSIDERAÇÕES FINAIS

A região de maximização da produção da amilase foi encontrada em 31,38% de umidade e pH 7,13, obtendo a atividade de amilase estimada acima de 3000  $\mu\text{mol/g}$ .

Para a produção de pectinase, a região com pH 6,38 foi ideal, sendo mais favorável para o aumento da atividade enzimática a região de maior proporção de farelo de trigo (cerca 67% de FT). Nessa região ocorre a maior produção enzimática acima de 40  $\mu\text{mol/g}$ .

Para atividade de celulase conclui-se que para esse estudo qualquer condição escolhida é satisfatória e que uma produção elevada pode ser obtida em 96h de fermentação. Estudos com maiores tempos de fermentação poderiam ser feitos para observar melhor a cinética e verificar se essa produção continua aumentando com o tempo.

Quanto à atividade de lipase, apesar das significâncias apresentadas é observado uma inconsistência entre os dados de forma que não é possível concluir uma região ótima para maximização da atividade enzimática da lipase.

A utilização de farelo de trigo, em geral, não apresentou influência no tocante à produção enzimática pelo fungo, o que significa que é possível produzir as enzimas avaliadas utilizando-se apenas a torta e a casca de licuri como substrato.

### REFERÊNCIAS

- CREPALDI, I. C.; ALMEIDA-MURADIAN, L. B. de.; RIOS, M. D. G.; PENTEADO, M. de V. C.; SALATINO, A. Composição nutricional do fruto de licuri (*Syagrus coronata* (Martius) Beccari). **Rev Bras Bot**, São Paulo, v. 24, n. 2, 2001.
- CRUZ, Ellen Abreu da et al. Produção de Alfa-Amilase por *Aspergillus niger* em Resíduo de Cascas de Mandioca. **Cient Ciênc Biol Saúde**. UNOPAR, v.4, p.245-9, 2011.
- UMSZA-GUEZ, M. A. **Produção de poligalacturonase em fermentação em estado sólido pelo fungo *Thermomucor indicae-seudaticae* N31 em escala de frascos e biorreator de leito fixo** -Tese (Doutorado) - Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto, 2009.
- HOLKER, U.; HOFER, M. & LENZ, J. Biotechnological Advantages of Lab-Scale Solid State Fermentation with Fungi. **Appl Microbiol Biotechnol**. v. 64, ed. 2, p.175–186, 2004.

