

NOME: EDUARDO DA SILVA MARTINS

TÍTULO: Aproveitamento de subprodutos agroindustriais para a produção de enzimas microbianas por fermentação em estado sólido

AUTORES: EDUARDO DA SILVA MARTINS, Alline Vieira Bernardes, Osonia Emerenciano Ferreira

PALAVRA CHAVE: subprodutos agroindustriais; enzimas; micro-organismos

RESUMO

APROVEITAMENTO DE SUBPRODUTOS AGROINDUSTRIAIS PARA A PRODUÇÃO DE ENZIMAS MICROBIANAS POR FERMENTAÇÃO EM ESTADO SÓLIDO

EDUARDO DA SILVA MARTINS, edusmartins@yahoo.com.br

APROVEITAMENTO DE SUBPRODUTOS AGROINDUSTRIAIS PARA PRODUÇÃO DE AMILASE TERMOFÍLICA

EDUARDO DA SILVA MARTINS, ALLINE VIEIRA BERNARDES, OSANIA EMERENCIANO FERREIRA

EDUARDO DA SILVA MARTINS

Palavras chave: enzimas, micro-organismos, subprodutos agroindustriais

Introdução

Desde o início da sua história o homem utiliza micro-organismos para o seu benefício. O processo de fermentação em estado sólido (FES), associado a diferentes micro-organismos, sempre representou um importante instrumento para a obtenção de produtos de interesse econômico. Recentemente, a FES tem sido promissora no desenvolvimento de vários bioprocessos, como na biorremediação e biodegradação de compostos tóxicos, biotransformação de resíduos de colheitas para enriquecimento nutricional e na obtenção de produtos de alto valor agregado, como as enzimas. Na produção de enzimas, linhagens bacterianas e fúngicas têm sido selecionadas e utilizadas com sucesso. A seleção do substrato para os processos de FES depende de vários fatores, principalmente aqueles relacionados ao seu custo e eficiência. Neste contexto, a utilização de subprodutos agroindustriais torna-se um atrativo. O aproveitamento destes materiais em bioprocessos tornou-se importante também sob o ponto de vista ambiental, reduzindo problemas relacionados ao seu manejo inadequado e consequentes danos ambientais. Diversas enzimas microbianas podem ser produzidas por fermentação em estado sólido, tais como celulasas, hemicelulasas, pectinases, ligninases e amilases. As amilases constituem um dos mais importantes grupos de enzimas com aplicações industriais, podendo ser aplicadas nas indústrias de panificação, têxtil, farmacêutica, laticínios, papel e celulose e sucoalcooleira.

Metodologia

Foi utilizada uma linhagem fúngica termofílica isolada do solo de uma propriedade rural do município de Comendador Gomes/MG. O fungo usado para inóculo nos diferentes substratos foi cultivado em Erlenmeyers de 500 mL, contendo meio Sabouraud com amido a 1%. O mesmo foi incubado 45°C, até apresentar bom crescimento.

Em cada frasco contendo o fungo, foram adicionados 100 mL de solução salina esterilizada, composta por sulfato de amônia (NH₄)₂SO₄ a 0,1%. A superfície do meio foi suavemente raspada com alça de inoculação esterilizada, obtendo-se assim uma suspensão micelial. Foram também preparados e esterilizados (121°C/30 min) meios de cultivo em Erlenmeyers de 250 mL, contendo 5g de quirera de arroz, quirera de milho ou quirera de sorgo. Inicialmente, os meios de cultivo para fermentação foram inoculados com a suspensão micelial, de modo que a umidade ficasse em torno de 70%, e incubados em estufa a 45°C, durante 7 dias. A cada 24 horas foram retiradas amostras, das quais foram determinadas a atividade enzimática.

Posteriormente, no melhor substrato e tempo de cultivo, foram avaliadas as seguintes soluções suplementares de nitrogênio: (NH₄)₂SO₄ a 0,1%; NH₄NO₃ a 0,1%, MgSO₄.7H₂O a 0,1% e (NH₄)₂SO₄ a 0,1%; suspensão 0,5% de farelo de soja em água; água (controle). Todas as soluções foram avaliadas em valores de pH 4,5, 5,0, 5,5 e 6,0. Os experimentos foram feitos em três repetições, sendo feita análise estatística dos dados.

Na caracterização físico-química, o comportamento da atividade da enzima em função do pH foi estudado incubando, por 10 minutos, a solução enzimática e substrato em tampões 0,2M acetato (pH 3,0 a 5,0), citrato (pH 5,5 a 7,0), Tris (7,5 a 8,5) e glicina (pH 9,0 a 10,0), sendo dosada a atividade a 60°C. O efeito da temperatura sobre a atividade enzimática foi avaliado incubando-se a mistura de reação em temperaturas de 40°C a 80°C (com variação de 5°C), e a atividade foi medida no pH determinado como ótimo.

A estabilidade em diferentes valores de pH foi avaliada incubando-as em tampões 0,2M acetato (pH 3,0 a 5,0), citrato (pH 5,5 a 7,0), Tris (7,5 a 8,5) e glicina (pH 9,0 a 10,0), em ausência de substrato, a 25°C, por 24 horas. Após esse período, foram tomadas amostras para ensaiar a atividade residual, nas condições de pH e temperatura determinados como ótimos para a atividade da enzima.

Com relação à estabilidade à temperatura, a enzima foi mantida por uma hora, em ausência de substrato, em temperaturas de 30°C a 70°C (com variação de 5°C). Após esse período, foram tomadas amostras para ensaiar a atividade enzimática, nas condições de pH e temperatura ótimos.

A "meia-vida" da enzima foi determinada incubando o extrato enzimático, por 15 minutos a 70°C e 75°C, retirando alíquotas e 1 em 1 minuto, sendo posteriormente dosada a atividade enzimática nas condições de pH e temperatura ótimos, determinados anteriormente.

Resultados Parciais

O melhor resultado obtido foi com a quirera de milho, na solução de NH_4NO_3 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ e $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, em pH 4,5, após 48 horas de cultivo. O pH ótimo da enzima foi pH 4,5 e a temperatura ótima foi 75°C. O extrato enzimático apresentou boa termoestabilidade até 60°C por 1 hora, e estabilidade superior a 70%, por 24h., na faixa de pH entre 3,5 e 6,0.

Discussão

Os resultados obtidos demonstram que a utilização dos subprodutos agroindustriais avaliados é viável para a produção de uma α -amilase com boas características para aplicação industrial, especialmente em processos que requerem pH em torno de 4,5 a 5,5, e altas temperaturas.