

AVALIAÇÃO DE PÓ DO CAULE DO MANDACARU (CEREUS JAMACARU DC.) COMO SUBSTRATO ALTERNATIVO PARA PRODUÇÃO DE ENZIMAS FÚNGICAS¹

Hiasmin Oliveira da Silva², Maíra Mercês Barreto³, Baraquizio Braga do Nascimento Junior⁴

RESUMO

O trabalho teve por objetivo comparar a produção das enzimas fúngicas lipase, celulase e amilase a partir do substrato do mandacaru (*Cereus jamacaru*) na FES e FS. Para isso foram utilizados os fungos *Aspergillus niger* e o *Rhizopus microsporus var. oligosporus*. Os fungos foram inoculados em suspensão a 10% de massa seca de caule de mandacaru para FS em água previamente esterilizada, e inoculado em pó de caule de mandacaru com umidade de 75% \pm 5 estéril para FES; foram incubados por 14 dias, a 25 °C. As enzimas extracelulares dos meios foram extraídas a partir da filtração do sobrenadante e doseadas por espectrofotometria. O estudo aponta que o resíduo de mandacaru é um substrato com potencial para o crescimento dos fungos estudados, utilizando tanto a fermentação em estado sólido quanto a submersa. A partir da determinação das médias das absorbâncias das atividades da lipase, amilase e celulase, pode-se observar que a produção de enzimas pelo *Rhizopus microsporus var. oligosporus* é superior nos dois estados fermentativos quando comparado com a produção enzimática pelo *Aspergillus niger*. O estudo evidenciou que em ambas condições de fermentação houveram produção enzimática em substrato de mandacaru, no entanto, a produção mais eficiente das enzimas lipase, amilase e celulase foi na fermentação do estado sólido.

PALAVRAS-CHAVE: Cactaceae, fermentação em estado sólido, fermentação submersa, fungos filamentosos.

EVALUATION OF MANDACARU STEM POWDER (CEREUS JAMACARU DC.) AS AN ALTERNATIVE SUBSTRATE FOR THE PRODUCTION OF FUNGAL ENZYMES

ABSTRACT

The aim of the work was to compare the production of the fungal enzymes lipase, cellulase and amylase from the substrate of mandacaru (*Cereus jamacaru*) in FES and FS. For this purpose, the fungi *Aspergillus niger* and *Rhizopus microsporus var. oligosporus* were used. The fungi were inoculated in a 10% suspension of dry mass of mandacaru stem for FS in previously sterilized water, and inoculated in mandacaru stem powder with a humidity of 75% \pm 5 sterile for FES; they were incubated for 14 days at 25 °C. The extracellular enzymes from the media were extracted from the supernatant filtration and measured by spectrophotometry. The study points out that mandacaru residue is a substrate with potential for the growth of the studied fungi, using both solid-state and submerged fermentation. From the determination of the average absorbances of lipase, amylase and cellulase activities, it can be observed that the production of enzymes by *Rhizopus microsporus var. oligosporus* is superior in both fermentative states when compared to enzymatic production by *Aspergillus niger*. The study showed

¹ Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia - FAPESB

² Graduanda em Farmácia, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 201920459@uesb.edu.br

³ Doutoranda do Programa Multicêntrico em Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, maira.mercês@uesb.edu.br

⁴ Docente orientador, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, bbnjunior@uesb.edu.br

that in both fermentation conditions there was enzyme production in mandacaru substrate, however the most efficient production of lipase, amylase and cellulase enzymes was in solid state fermentation.

KEYWORDS: Cactaceae, solid-state fermentation, submerged fermentation, filamentous fungi.

INTRODUÇÃO

As enzimas são proteínas que interferem na velocidade das reações químicas, atuando com catalizadores biológicos; podendo ser coletados de fontes animais, vegetais e microbianas. As lipases, amilases e celulasas são enzimas do tipo hidrolases, usadas em produtos ou processos industriais de alimentos, saneantes, têxtil, papel, farmacêutica, que podem ser originárias também por processos fermentativos com microrganismos e por tecnologia de DNA recombinante (OZATAY, 2020).

A produção de enzimas extracelulares por fungos pode ser conduzida por fermentação em estado submerso (FS) ou fermentação em estado sólido (FES), em condições laboratoriais controladas. Na FES os microrganismos crescem em um substrato sólido, contendo umidade suficiente apenas para manter o crescimento e o metabolismo do microrganismo, isto é, isento de água livre. No entanto, nem todos os microrganismos são capazes de crescer e desenvolver-se nessas condições (SILVA et al., 2019).

Por outro lado, na FS a presença de água é algo fundamental, tendo em vista que tanto o substrato quanto os nutrientes são solúveis ou ficam em suspensão em água. Neste processo o produto gerado se encontra presente em meio líquido (OLIVEIRA, 2021).

Nos últimos anos, estudos têm sido realizados acerca da utilidade do mandacaru (*Cereus jamacaru* DC.), uma planta nativa do Brasil, disseminada na região semiárida nordestina, que tem sido utilizada como fonte de nutrientes para animais e humanos (DOS SANTOS, 2019).

Nesse contexto, o presente trabalho teve por objetivo estudar a viabilidade da produção das enzimas fúngicas lipase, celulase e amilase a partir do substrato do mandacaru (*Cereus jamacaru*) nas condições fermentativas FES e FS.

MATERIAIS E MÉTODOS

Para realização deste experimento foram utilizadas as linhagens dos fungos filamentosos *Aspergillus niger* e *Rhizopus microsporus* var. *oligosporus*. O inóculo de cada fungo foi preparado em uma suspensão de esporos de 10^7 UFC/mL.

Para a FES, os esporos foram inoculados em pó de caule de mandacaru estéril, com umidade de 75% \pm 5. Já para a FS, os esporos foram inoculados em uma suspensão esterilizada de 10% de massa seca de caule de mandacaru em água. Para FES foram incubados por 14 dias, a 25°C, em BOD; para FS foram incubados em shaker, a 150rpm, por 14 dias, a 25°C.

As enzimas extracelulares foram extraídas do meio na forma de extrato bruto enzimático, a partir da filtração do sobrenadante. A concentração de celulase e amilase foi determinada utilizando o método do ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) que é baseado na determinação de açúcares redutores presente na amostra por espectrofotometria a 540nm (MILLER, 1959, PERAZA-JIMÉNEZ et al, 2022).

Por outro lado, a concentração de lipase foi definida mediante o método do p-nitrofenilpalmitato (pNPP) que se baseia na hidrólise do pNPP pela enzima em meio aquoso contendo como surfactante Triton X-100. Assim, a liberação do p-nitrofenol (pNP), de coloração amarela, é lida por espectrofotometria a 410nm, de acordo com o descrito por Patel e Shah (2018).

Os dados foram tabulados e analisados no programa Excel Windows®.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

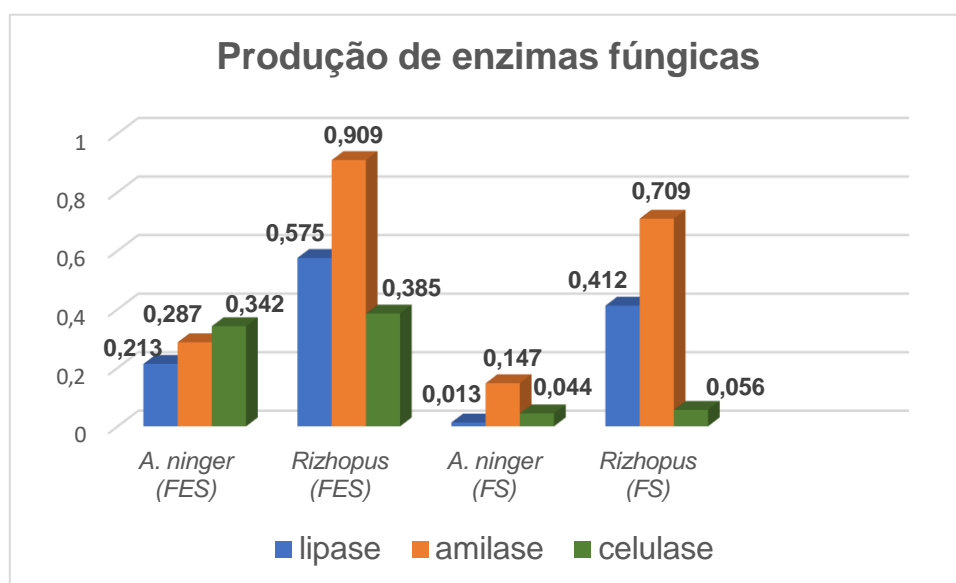
O estudo apontou que a planta mandacaru é um substrato adequado, pois apresenta em sua composição componentes que servem tanto como fonte de carbono e oxigênio, quanto de suporte para o crescimento dos fungos estudados, utilizando a fermentação em estado sólido e submerso para a produção das enzimas amilase, celulase e lipase (SERAFIM, 2017).

Os fungos, *Aspergillus niger* e o *Rhizopus microsporus var. oligosporus*, apresentaram crescimento em pó de caule de mandacaru com umidade de 75% \pm 5 para a FES, assim como cresceu em suspensão de massa seca de caule de mandacaru para o FS. De modo que, ao compararmos a produção das enzimas lipase, amilase e celulase do *Rhizopus microsporus var. oligosporus* com a produção enzimática do *A. niger* em ambos estados fermentativos, foi evidenciado uma melhor produção de enzimas fúngicas pelo *Rhizopus microsporus var. oligosporus*, na condição FES, sendo a amilase a enzima de melhor produção em ambas as condições de fermentação, como ilustra a figura 1.

Os microrganismos são apresentados como potenciais produtores de diferentes enzimas de interesse comercial nos dois estados fermentativos FES e FS, no entanto para os fungos filamentosos, o estado fermentativo de melhor produção é o estado

sólido (FES), isso explica o motivo pelo qual os fungos utilizados para realização deste estudo apresentaram maior produção pela FES utilizando o mandacaru como substrato.

FIGURA 1: Média das absorbâncias da produção de enzimas pelo *A. ninger* e *Rizhopuz*



Fonte: próprio autor

CONCLUSÕES/CONSIDERAÇÕES

Os resultados do estudo demonstram que as duas linhagens fúngicas utilizadas são capazes de produzir as enzimas amilase, celulase e lipase por fermentação em estado sólido e submerso utilizando mandacaru como substrato. No entanto, a produção destas enzimas foi mais eficiente na condição de fermentação em estado sólido.

Além disso, o estudo evidenciou que houve uma maior produção das enzimas amilase, celulase e lipase pelo fungo *Rhizopus microsporus var.* quando comparado com o *Aspergillus niger*, sendo a amilase a enzima de maior produção em ambos estados fermentativos.

Mediante o estudo é possível afirmar que o mandacaru pode ser utilizado como substrato alternativo, economicamente interessante pela abundância no bioma do semiárido brasileiro e por fácil propagação agrícola, para produção de enzimas fúngicas, como: amilase, celulase e lipase.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ADETUNJI, A.I.; OLANIRAN, A.O. Production strategies and biotechnological relevance of microbial lipases: a review. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.52, n.3, p.1257-1269, 2021.
2. CEKMECELIOGLU, Deniz; DEMIRCI, Ali. Production of cellulase and xylanase enzymes using distillers dried grains with solubles (DDGS) by *Trichoderma reesei* at shake-flask scale and the validation in the benchtop scale bioreactor. *Waste and Biomass Valorization*, p. 1-10, 2020.
3. DOS SANTOS, JAMILE FRANCISCA, Prospective study of *Cereus jamacaru* DC CACTUS, **Rev. INGI – Indicação Geográfica e Inovação**, v.3, n.4, 2019.
4. GOUKANAPALLE, Praveen Kumar Reddy et al. Optimization of cellulase production by a novel endophytic fungus *Pestalotiopsis microspora* TKBRR isolated from Thalakona forest. *Cellulose*, v. 27, p. 6299-6316, 2020.
5. IRFAN, M. et al. Utilization of peanut shells as substrate for cellulase production in submerged fermentation through Box-Behnken Design. **International Journal of Biology and Chemistry**, v. 12, n. 2, p. 28-39, 2020.
6. MILLER, GL Uso de Reagente de Ácido Dinitrosalicílico para Determinação de Açúcar Redutor. **Anal. Chem.** v.31, p.426-428, 1959. DOI: 10.1021/ac60147a030.
7. MONDAL, Subhadeep et al. Contemporaneous synthesis of multiple carbohydrate debranching enzymes from newly isolated *Aspergillus fumigatus* SKF-2 under solid state fermentation: A unique enzyme mixture for proficient saccharification of plant bioresources. **Industrial Crops and Products**, v. 150, p. 112409, 2020.
8. OLIVEIRA, B. **Imobilização e caracterização parcial de lipase por *Fusarium oxysporum* em fermentação submersa**. Tese (Mestre em Microbiologia Aplicada) – Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, p.133, 2021.
9. OZATAY, S. Recent Applications of Enzymes in Food Industry. **Journal of Current Research on Engineering, Science and Technology**, v.6, n.1, p.17-30, 2020. DOI: 10.26579/jocrest.52.
10. PERAZA-JIMÉNEZ, K.; DE LA ROSA-GARCÍA, S.; HUIJARA-VASCONSELOS, J.J.; REYES-ESTEBANEZ, M.; GÓMEZ-CORNELIO, S. Enzymatic Bioprospecting of Fungi Isolated from a Tropical Rainforest in Mexico. **J. Fungi**. v.8, p.22, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/jof8010022>.
11. RAINA, D.; KUMAR, V.; SARAN, S. A Critical Review on Exploitation of Agro-Industrial Biomass as Substrates for the Therapeutic Microbial Enzymes Production and Implemented Protein Purification Techniques. **Chemosphere**, v.294, p.133712, 2022. ISSN 0045-6535. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.133712>.
12. SERAFIM, E. **Estudo da produção de biossurfactante e lipase por *Aspergillus ninger* ATCC 1004 utilizando substratos de baixo custo**. Tese (Mestre em Química) – Química Analítica, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Jequié, p.83, 2017.

13. SILVA, A. F. V. et al. Cellulase production to obtain biogas from passion fruit (*Passiflora edulis*) peel waste hydrolysate. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 7, n. 6, p. 103510, 2019.

AGRADECIMENTOS

FAPESB, CNPq, CAPES e UESB pelo fomento da pesquisa.

