

# ANÁLISE DA PRODUÇÃO DE XILANASES POR FUNGOS FILAMENTOSOS ISOLADOS DO SOLO DA FLORESTA AMAZÔNICA TENDO COMO SUBSTRATO RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS



Gabriel Chiomento da Motta

Orientador: Professor Dr. Marco Antônio Záchia Ayub

Laboratório de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia (BiotecLab) - ICTA - UFRGS

## INTRODUÇÃO

A fibra de soja e o farelo de trigo são resíduos provenientes do processamento da soja e do trigo. Estes resíduos agroindustriais são caracterizados por serem gerados em grande quantidade no Brasil (grande produtor de soja e trigo) e por serem ricos em substâncias como celulose, hemicelulose e lignina, promissoras fontes de substratos para produção de enzimas, como as xilanases. Estas enzimas tem a capacidade de utilizar a xilana, principal componente da hemicelulose, para a produção de xilooligosacarídeos, substâncias de alto valor agregado.

## OBJETIVO

✓ Analisar a produção de enzimas (xilanases) de fungos filamentosos isolados do solo da floresta amazônica utilizando fibra de soja e farelo de trigo como substrato.

## METODOLOGIA

### CULTIVO E MANUTENÇÃO DOS MICRO-ORGANISMOS

✓ Os micro-organismos utilizados fazem parte da coleção de culturas do BiotecLab;  
✓ Realizou-se cultivo e manutenção dos fungos filamentosos em ágar batata-dextrose (BDA);  
✓ Os fungos estudados foram: *Aspergillus brasiliensis* 157f, *Penicillium* F1, 319f e P3, UEA-17, *Trichoderma* 154f, e o fungo comercial *Aspergillus niger* ATCC 13794.

### ENSAIO PRODUÇÃO DE XILANASE EM FARELO DE TRIGO E FIBRA DE SOJA

✓ Cultivo em meio sólido com relação de substrato-umidade mantida em 1:2 utilizando meio basal (Reginatto, 1992);  
✓ Meio basal:  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  (1,4 g.L<sup>-1</sup>),  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (2,0 g.L<sup>-1</sup>),  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (0,3 g.L<sup>-1</sup>),  $\text{CaCl}_2$  (0,3 g.L<sup>-1</sup>),  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (5,0 mg.L<sup>-1</sup>),  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (1,56 mg.L<sup>-1</sup>),  $\text{CoCl}_2$  (2,0 mg.L<sup>-1</sup>) e  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (1,4 mg.L<sup>-1</sup>), apresentando pH 5,5;  
✓ Esterilização dos meios em autoclave (121 °C, 15 min.);  
✓ Inóculo - suspensão de esporos das diferentes linhagens, na concentração de 10<sup>6</sup> esporos.g de substrato<sup>-1</sup>;  
✓ Cultivo em incubadora a 30 °C por 8 dia, tendo amostras coletadas a cada 48 h.

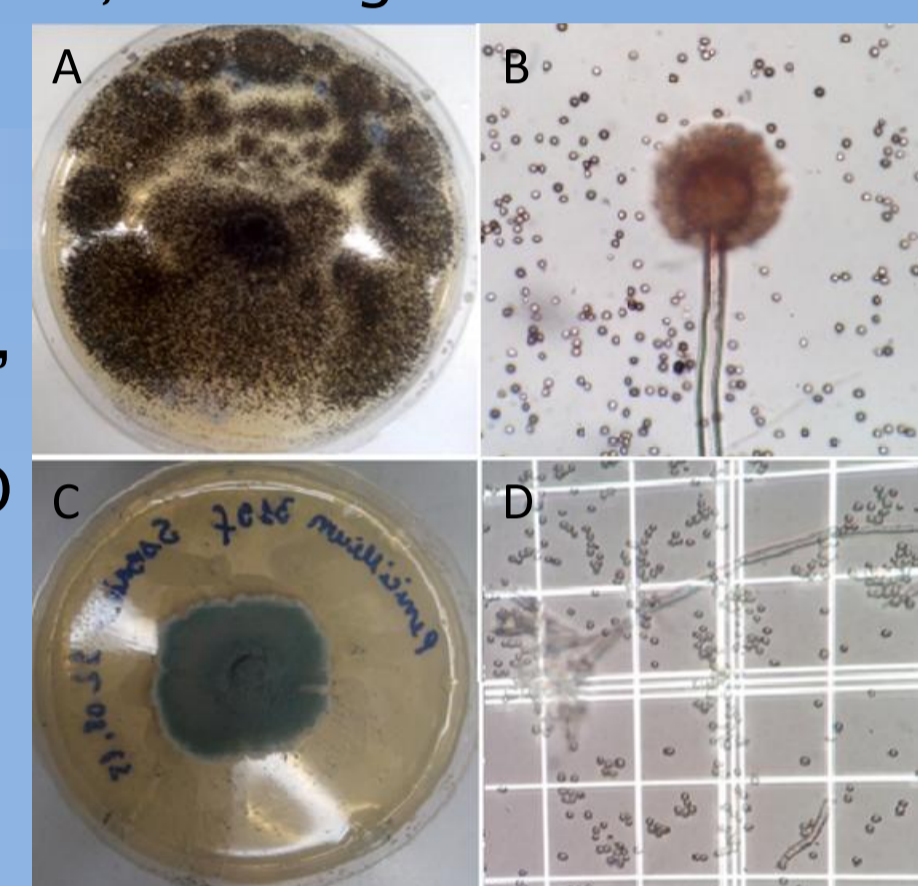


Figura 1. Aspectos morfológicos dos fungos *Aspergillus niger* 157f (a, b) e *Penicillium* 319f (c, d). (Fonte: o autor, 2016).

## ANÁLISE DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA

✓ Extração enzimática com tampão acetato de sódio (50 mM, pH 5,0);  
✓ Reação enzimática em proporção 1:1 de extrato enzimático e de solução de xilana 1%, sob condição de 50 °C por 30 min.;  
✓ Interrupção de reação enzimática com solução de DNS (300 g.L<sup>-1</sup> de tartarato de sódio e potássio, 1 g.L<sup>-1</sup> de ácido 3,5 dinitrosalicílico e 16 g.L<sup>-1</sup> de hidróxido de sódio), sob condição de 100 °C por 5 min.;  
✓ Análise de concentração de açúcares redutores através do método do ácido 3,5 dinitrosalicílico (DNS) em espectrofotômetro - 540 nm (Miller, 1959).

## RESULTADOS

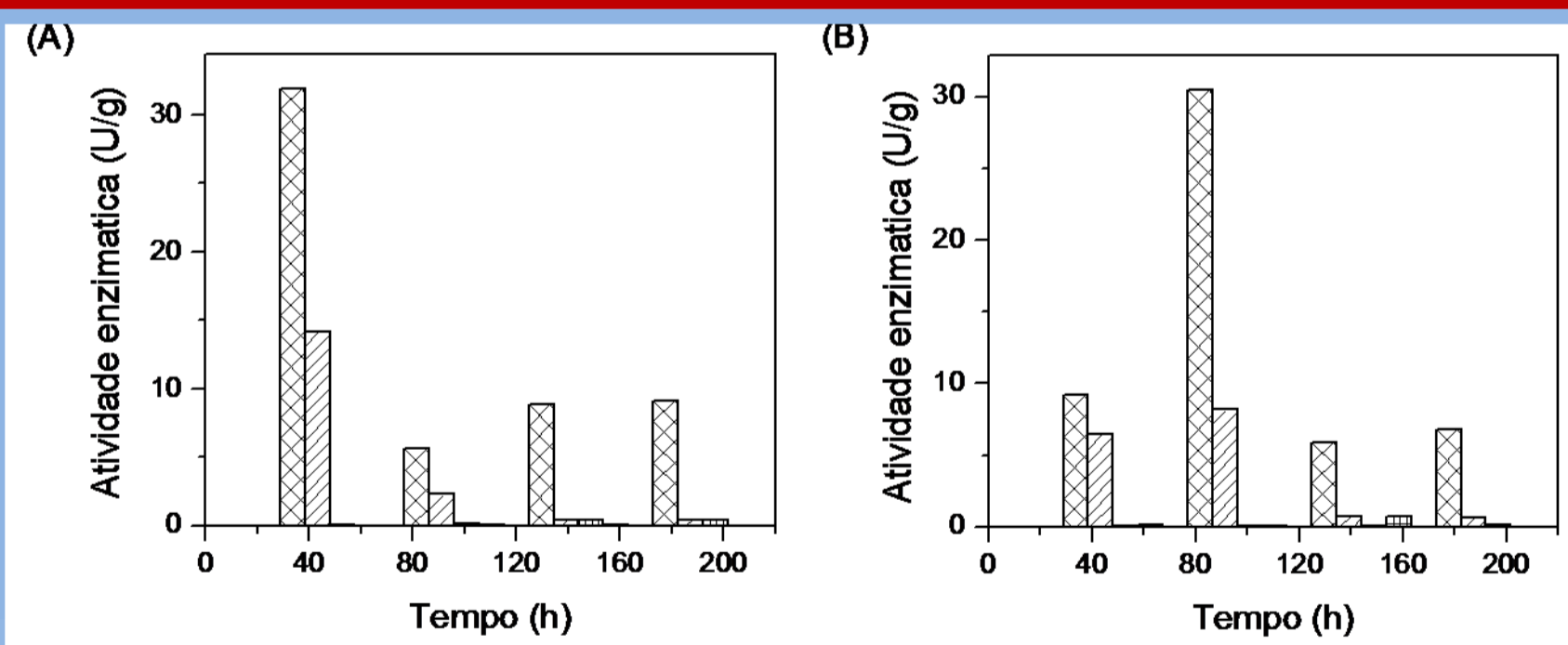


Figura 2. Cinética da atividade enzimática de xilanase por *Aspergillus brasiliensis* 157f obtida em estado sólido a partir de (A) farelo de trigo e (B) fibra de soja. Xilanase (▨), celulase (▧).

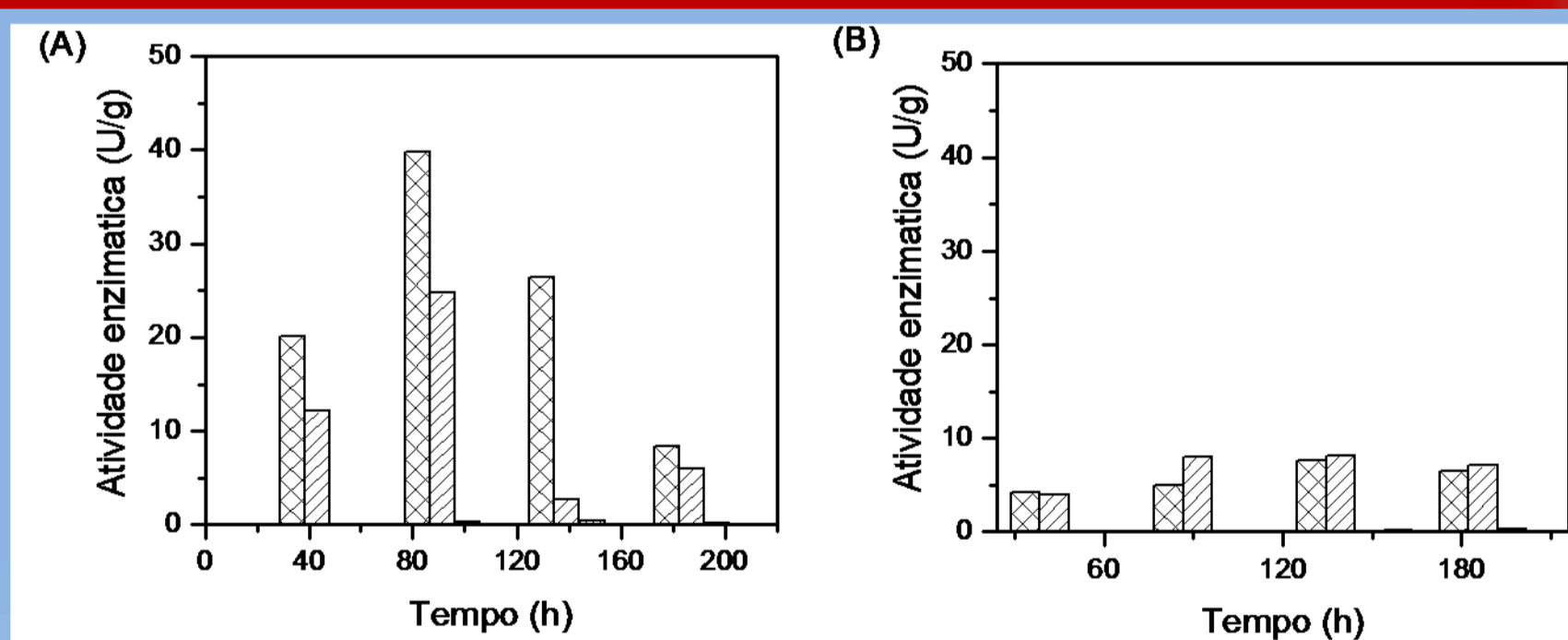


Figura 3. Cinética da atividade enzimática de xilanase por *Penicillium* P3 obtida em estado sólido a partir de (A) farelo de trigo e (B) fibra de soja. Xilanase (▨), celulase (▧).

## CONCLUSÃO

Constatou-se que os maiores valores de atividade enzimáticas para produção de xilanase foram obtidos em farelo de trigo em comparação com a fibra de soja para todos os gêneros e linhagens testadas. O fungo *Aspergillus brasiliensis* 157f apresentou a maior atividade enzimática em ambos os substratos, chegando a um máximo de 31,9 U/g em farelo de trigo e 30,4 U/g em fibra de soja. Sua produção enzimática máxima no farelo de trigo ocorreu em 48 h de cultivo, ao passo que para fibra de soja esta foi obtida no dobro do tempo (96 h). A maior atividade enzimática foi obtida para o fungo *Penicillium* P3, chegando a 39,8 U/g, em farelo de trigo, entretanto, em fibra de soja sua atividade foi cerca de cinco vezes menor. Como próximas etapas para este trabalho encontram-se a otimização das condições de produção enzimática para posterior utilização na produção de xilooligosacarídeos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Fungo	Atividade enzimática (U/g)	
	Farelo de trigo	Fibra de soja
<i>Aspergillus brasiliensis</i> 157f	31,9	30,4
<i>Aspergillus niger</i> ATCC 13794	29,3	10,8
UEA-17	16,7	11,2
<i>Trichoderma</i> 154f	14,8	12,0
<i>Penicillium</i> 319f	20,5	9,10
<i>Penicillium</i> F1	18,6	4,50
<i>Penicillium</i> P3	39,8	7,60

✓ HECK, J.X.; HERTZ, P.F.; AYUB, M.A.Z. cellulase and xylanase production by isolated amazon *Bacillus* strains using soybean industrial residue based solid-state cultivation. *Brazilian Journal of Microbiology*, v.33, p.213-218, 2002.  
✓ IMMERZEEL, P.; FALCK, P.; GALBE, M.; ADLERCREUTZ, P. KARLSSON, E.N; STALBRAND, H. Extraction of water-soluble xylan from wheat bran and utilization of enzymatically produced xylooligosaccharides by *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* and *Weissella* spp. *Food Science and Technology*, v.56, p.321-327, 2014.  
✓ MILLER, G.L. Use of the dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, v.31, p.426-428, 1959.  
✓ WESENDONCK, W. R; KESSLER, A.M; RIBEIRO, A.M.L; SOMENSI, M.L; BOCKOR, L; DADALT, J.C; MONTEIRO, A.N.T.R, MARX, F.R. Valor nutricional e energia metabolizável de subprodutos do trigo utilizados para alimentação de suínos em crescimento. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.48, n.2, p.203-210, fev. 2013.