

Atividade enzimática de α -amilase durante cultivo de *Rhizopus oryzae*

**OLIVEIRA, Raquel B; ALVES, Chiara L; SOUZA, Taiana D
FURLONG, Eliana B (orientador)**

briaoraquel@gmail.com

**Evento: XIV Mostra de Produção Universitária
Área do conhecimento: Ciências Agrárias**

Palavras-chave: farelo de arroz, α -amilase

1 INTRODUÇÃO

O cultivo de fungos em farelo de arroz pode resultar em alterações em atividades enzimáticas, e em consequência, liberação de diversos compostos, que podem ser interessantes para diferentes fins.

Em vista disto, o objetivo deste trabalho foi acompanhar a atividade da α -amilase durante o cultivo de *Rhizopus oryzae* CCT 7560 em estado sólido utilizando farelo de arroz integral como substrato, visando conhecer a evolução desta biomassa fúngica, para posterior aplicação do material fermentado resultante.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

Os fungos filamentosos, como o *Rhizopus oryzae*, que não produzem substâncias tóxicas, encontram-se entre os mais importantes em relação ao crescimento de biomassa, além de elevar os teores proteicos pela atividades catalíticas específicas (Silveira & Badiale-Furlong, 2007).

Estudos demonstram a eficiente utilização de farelo de arroz como substrato para o seu cultivo em estado sólido e seu crescimento pode ser acompanhado pela atividade de enzimas específicas (Schmidt et al., 2014; Kupski et al., 2013).

Dentre as enzimas amilolíticas, a mais importante é a α -amilase, pois desempenha um papel fundamental na conversão do amido em produtos de baixa massa molecular favorecendo o crescimento fúngico (Santana, 2012).

3 MATERIAIS E MÉTODOS (ou PROCEDIMENTO METODOLÓGICO)

O cultivo em estado sólido foi realizado em reator de bandeja, utilizando farelo de arroz integral enriquecido com solução nutritiva (KH_2PO_4 2 g.L⁻¹, MgSO_4 1 g.L⁻¹, NH_2CONH_2 1,8 g.L⁻¹ em HCl 0,4 N) e umidade corrigida inicialmente para 50% com água estéril, seguido pela inoculação dos esporos de *Rhizopus oryzae* CCT 7560 ($4,0 \times 10^6$ esporos.g meio⁻¹), durante 120 horas à 30°C, com retiradas de amostras, a cada 24 horas.

O extrato enzimático obtido da biomassa foi homogeneizado (1:10, m/v) com solução de NaCl 0,9%, sob agitação orbital por 30 minutos à 30°C. O sobrenadante foi filtrado e completado o volume para 25 mL.

A determinação da atividade enzimática de α -amilase, conduzida em reator, com adição de 1 mL de solução de amido 1%, 0,1 mL de solução de tampão de ácido cítrico-fosfato de sódio 0,1 M (pH 6,0) e 0,3 mL de água destilada, incubado em banho-maria a 50°C por 5 minutos, seguida de adição 1 mL de extrato enzimático e retornado ao banho-maria, nas mesmas condições de temperatura e

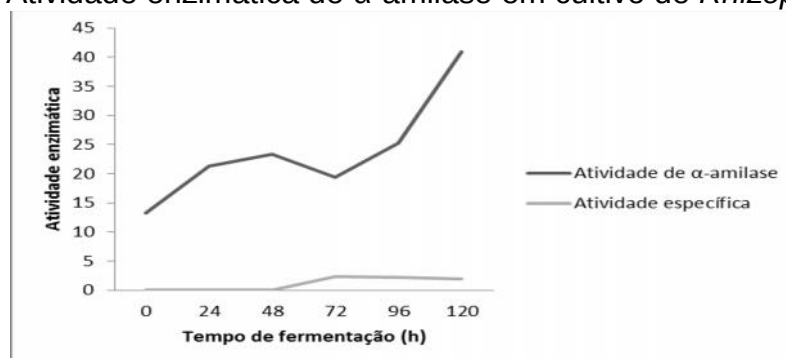
tempo. A reação foi interrompida pela adição 50 μL de HCl 1M e o amido não hidrolisado foi medido pela adição 0,5 mL de uma solução de iodo 0,3%. A quantificação da proteína presente no extrato enzimático foi avaliada pelo método de Lowry (Lowry et al., 1951) utilizando o reagente de Folin Ciocalteau e leitura a 660 nm.

4 RESULTADOS e DISCUSSÃO

A Figura 1 apresenta a evolução da atividade de α -amilase e teor de proteína solúvel durante ao decorrer das 120 horas cultivo de *Rhizopus oryzae* em farelo de arroz. Podemos observar que a maior atividade enzimática de α -amilase foi verificada as 72 horas de cultivo, auge do crescimento deste microrganismo (Kupski et al., 2013). O teor de proteína no extrato apresentou um aumento de 61,7%, apenas em 120 horas.

Dessa forma, a atividade enzimática específica apresentou um aumento apenas em 72 horas. O tempo de fermentação de 72 horas produziu os maiores valores de atividade enzimática 2,3237, em que uma unidade de atividade (Ua) é a variação para hidrólise de 1 g de amido. Sendo a atividade específica expressa em Ua.mg de proteína⁻¹.

Figura 1. Atividade enzimática de α -amilase em cultivo de *Rhizopus oryzae*



5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O farelo de arroz como substrato promove o aumento da biomassa fúngica conforme indica o aumento da atividade de α -amilase.

REFERÊNCIAS

- KUPSKI, L. ; ALVES, C. L.; GARDA-BUFFON, J.; BADIALE-FURLONG, E.; Application of carboxypeptidase from *Rhizopus* on ochratoxin A degradation. BBR - Biochemistry and biotechnology reports Jul./Dez., v.2, n.4, p. 30-36, 2013.
- LOWRY, O. H.; ROSENBROUGH, M. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. Protein measurement with the Folin Phenol Reagent. Journal of Biological Chemistry, v. 193, p.265-275, 1951.
- SANTANA, R.; Produção de enzimas amilolíticas através da fermentação em estado sólido. Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - UESB, 73p.,2012.
- SCHMIDT, C.G.; GONÇALVES, L.M.; PRIETTO, L.; HACKBART, H.S.; BADIALE-FURLONG, E.; Antioxidant activity and enzyme inhibition of phenolic acids from fermented rice bran with fungus *Rizhopus oryzae*. Food Chemistry, v.146, p. 371–377, 2014.
- SILVEIRA, C.M.; BADIALE-FURLONG, E.B.; Characterization of nitrogenated compounds in solid state fermented bran. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v.27 (4), p. 805-811, 2007.