



# A Produção do Conhecimento nas Ciências Biológicas

---

José Max Barbosa de Oliveira Junior  
(Organizador)

 **Atena**  
Editora

Ano 2019

**José Max Barbosa de Oliveira Junior**  
(Organizador)

# **A Produção do Conhecimento nas Ciências Biológicas**

Atena Editora  
2019

2019 by Atena Editora

Copyright © da Atena Editora

Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Diagramação e Edição de Arte: Lorena Prestes e Geraldo Alves

Revisão: Os autores

#### Conselho Editorial

Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas  
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília  
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa  
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná  
Prof. Dr. Darllan Collins da Cunha e Silva – Universidade Estadual Paulista  
Profª Drª Deusilene Souza Vieira Dall’Acqua – Universidade Federal de Rondônia  
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria  
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná  
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice  
Profª Drª Juliane Sant’Ana Bento – Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense  
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul  
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins  
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão  
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará  
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista  
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará  
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas  
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande  
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

#### Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)

P964 A produção do conhecimento nas ciências biológicas [recurso eletrônico] / Organizador José Max Barbosa de Oliveira Junior. – Ponta Grossa (PR): Atena Editora, 2019.

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader.

Modo de acesso: World Wide Web.

Inclui bibliografia

ISBN 978-85-7247-279-1

DOI 10.22533/at.ed.791192504

1. Ciências biológicas. 2. Biologia – Pesquisa – Brasil. I. Oliveira Junior, José Max Barbosa de.

CDD 574

Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores.

2019

Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)

## APRESENTAÇÃO

A obra “*A produção do Conhecimento nas Ciências Biológicas*” consiste de uma série de livros de publicação da Atena Editora. Com 21 capítulos o volume I apresenta uma visão holística e integrada da grande área das Ciências Biológicas, com produção de conhecimento que vai de biologia molecular à biologia da conservação. Assim, os conhecimentos apresentados nos capítulos permeiam distintas temáticas dessa área, como: biotecnologia, semicondutores, avaliação físico-química, controle de proliferações, atividade celulolítica, diversidade e taxonomia, jogos didáticos e ensino de biologia, educação ambiental, saúde e qualidade de vida e restauração ecológica.

Essa amplitude de conhecimento é bem inerente às Ciências Biológicas, afinal, são tais ciências (biologia geral, genética, botânica, zoologia, ecologia, morfologia, fisiologia, bioquímica, biofísica, farmacologia, imunologia, microbiologia e parasitologia) que buscam entender as interações dos/entre diferentes seres vivos e também com o ambiente em que vivem, identificando os padrões de comportamento de cada um deles em relação as mais variadas condições ambientais e atividades antrópicas.

Recentemente o renomado pesquisador Dr. Leandro Juen fez uma afirmativa extremamente coerente e condizente com a real situação da ciência no mundo: “*nossa capacidade de gerar conhecimento é bem menor do que a velocidade da alteração e da degradação ambiental*” e, em consequência disso, muitas espécies e formas eficazes de ensino serão perdidas até mesmo antes do conhecimento de suas existências/ funções pela ciência. Essa assertiva nos faz pensar o quanto não somente a ciência aplicada, mas também a básica, são fundamentais para amenizarmos essa situação. E “*a produção do conhecimento nas Ciências Biológicas*” traz ciência: da básica à/e/ou aplicada. Assim, inspirado em um artigo de Courchamp et al. (2015), convidamos todos a refletirem sobre a importância que a ciência básica exerce na “base” da produção de conhecimento, ou seja, estudos básicos são fundamentais para entendermos o nosso complexo mundo biológico.

Mesmo que historicamente o financiamento para pesquisas básicas tenha sido em níveis inferiores aos de outras grandes categorias de pesquisa, arrisco dizer que, possivelmente poucas pesquisas na edição desse livro tiveram grande financiamento, mas que, no entanto, os 21 capítulos do livro trazem pautas de grande relevância (na área de Ciências Biológicas) para toda comunidade acadêmico-científica e sociedade civil, auxiliando na promoção de uma ciência básica e/ou aplicada de qualidade, e no estabelecimento de uma base técnica, científica e educacional acessível a todos os segmentos e atores envolvidos na área ambiental, como forma de subsidiar ações de políticas públicas, administrativas, educacionais e de conservação de maneira geral.

Por fim, convidamos todos os leitores a mergulharem no misto de boas informações que o livro traz, e que, o mesmo possa atuar como um veículo adequado para difundir e ampliar o conhecimento em Ciências Biológicas, com base nos resultados aqui dispostos. Ademais, esperamos que os mesmos resultados sejam fontes inspiradoras

para que jovens estudantes/pesquisadores(as) continuem descobrindo, criando, aperfeiçoando e contribuindo na geração de novas tecnologias e conhecimento em Ciências Biológicas, proporcionando uma ampliação das ações científicas e educacionais realizadas em prol de uma causa maior “o equilíbrio entre homem e meio ambiente”. Considerem nesse momento “meio ambiente” como um termo amplo, maleável e multifacetado, que envolve não somente as esferas “biológica” e “física”, mas também o componente antrópico (sociedade - economia, cultura, dentre outros) e todas as dinâmicas das relações que se estabelecem em todas essas esferas.

A todos(as), uma excelente leitura!

José Max Barbosa de Oliveira Junior

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1</b> .....	<b>1</b>
AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE ENZIMAS CELULOLÍTICAS POR <i>Trichoderma harzianum</i> IOC 3844	
Sabrina Marques Rios Marcelo Chuei Matsudo Joyce Elise de Campos Pinto	
<b>DOI 10.22533/at.ed.7911925041</b>	
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	<b>9</b>
AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE AMILASES POR <i>Aspergillus awamori</i> IOC 4142	
Joyce Elise de Campos Pinto Sabrina Marques Rios Marcelo Chuei Matsudo	
<b>DOI 10.22533/at.ed.7911925042</b>	
<b>CAPÍTULO 3</b> .....	<b>16</b>
IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DA INTOLERÂNCIA À LACTOSE	
Maria Cristina Modesto Clementino Eliane Papa Ambrosio Albuquerque	
<b>DOI 10.22533/at.ed.7911925043</b>	
<b>CAPÍTULO 4</b> .....	<b>22</b>
PRODUÇÃO DE LEVANA E SUA APLICAÇÃO EM COSMÉTICOS	
Reginara Teixeira da Silva Gabrielly Terassi Bersaneti Audrey Alesandra Stingham Garcia Lonni Maria Antonia Pedrine Colabone Celligoi	
<b>DOI 10.22533/at.ed.7911925044</b>	
<b>CAPÍTULO 5</b> .....	<b>36</b>
SÍNTESE E PURIFICAÇÃO DA FTALOCIANINAS DE COBRE	
Carlos Alberto Mitio Hirano Paulo Sergio Calefi	
<b>DOI 10.22533/at.ed.7911925045</b>	
<b>CAPÍTULO 6</b> .....	<b>41</b>
ELABORAÇÃO E AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE MANGA EM CALDA ELABORADA COM A VARIEDADE <i>Tommy atkins</i>	
Ana Paula Costa Câmara Érica Braga de Sousa Vieira Cristiane Rodrigues de Araújo Penna Robson Rogério Pessoa Coelho Íris Braz da Silva Araújo	
<b>DOI 10.22533/at.ed.7911925046</b>	

<b>CAPÍTULO 7</b> .....	<b>57</b>
EVALUATION OF THE EFFECT OF INSETICIDES ON THE INTESTINAL MICROBIOTA OF <i>Culex quinquefasciatus</i>	
José Márcio Gomes Fernandes Adriano Guimarães Parreira Stênio Nunes Alves	
<b>DOI 10.22533/at.ed.7911925047</b>	
<b>CAPÍTULO 8</b> .....	<b>67</b>
PRODUÇÃO DE CELULASES POR FUNGOS FILAMENTOSOS ISOLADOS NO NORTE DE MINAS GERAIS CULTIVADOS EM MEIO DE CULTURA CONTENDO RESÍDUOS DE BANANEIRA	
Adrielle Mercia Alves Santos Barbhara Mota Marinho Vivian Machado Benassi	
<b>DOI 10.22533/at.ed.7911925048</b>	
<b>CAPÍTULO 9</b> .....	<b>73</b>
TABELA TAXONÔMICA SIMPLIFICADA PARA IDENTIFICAÇÃO DE VETORES DA FEBRE MACULOSA PRESENTES NO ESTADO DO TOCANTINS	
Mariana Antunes Fiorotto de Abreu Bruna Silva Resende André Moreira Rocha Tássia Silva Resende Rafaella Antunes Fiorotto de Abreu Josefa Moreira do Nascimento-Rocha	
<b>DOI 10.22533/at.ed.7911925049</b>	
<b>CAPÍTULO 10</b> .....	<b>89</b>
HIPÓTESES EXPLICATIVAS PARA OCORRÊNCIA DE ALTERAÇÕES TERATOLÓGICAS EM DIATOMÁCEAS ( <i>Bacillariophyceae</i> )	
Cinthia Coutinho Rosa Favaretto Camila Akemy Nabeshima Aquino Liliane Caroline Servat Norma Catarina Bueno	
<b>DOI 10.22533/at.ed.79119250410</b>	
<b>CAPÍTULO 11</b> .....	<b>95</b>
O ENSINO DE EDUCAÇÃO AMBIENTAL DESTACANDO A PRESERVAÇÃO DA <i>Araucaria angustifolia</i>	
Patricia Bachniuk Kloc Bruna Maria Caznok Adriane Rodrigues de Moraes Leite Vilcinéia Leszak Silmara Ap. Meira Bandeira Fabiane Fortes	
<b>DOI 10.22533/at.ed.79119250411</b>	

<b>CAPÍTULO 12</b> .....	<b>105</b>
ENSINANDO EVOLUÇÃO COM O ZOOLOGICO: USO DE ESPAÇO NÃO FORMAL PARA O ENSINO	
Hudson Rodrigo da Cruz Monteiro	
Ananda Souza Lima	
Manoela Volkweis Lombardi	
Davi Rios Valdez	
Natasha Araújo Tavares	
<b>DOI 10.22533/at.ed.79119250412</b>	
<b>CAPÍTULO 13</b> .....	<b>111</b>
JOGO DIDÁTICO: DESCOBRINDO AS AVES	
Alan Marques Galdino	
Henrique Rezende Untem	
Maria Aparecida de Sousa Perrelli	
<b>DOI 10.22533/at.ed.79119250413</b>	
<b>CAPÍTULO 14</b> .....	<b>123</b>
DESENVOLVIMENTO DE UM APLICATIVO MÓVEL PARA A CARACTERIZAÇÃO DE ÁREAS ENDÊMICAS DE <i>Schistosoma mansoni</i> NO BRASIL	
Davi Viegas Melo	
Guilherme Silva Miranda	
João Gustavo Mendes Rodrigues	
Arthur Cantanhede Lima	
Neuton Silva Sousa	
<b>DOI 10.22533/at.ed.79119250414</b>	
<b>CAPÍTULO 15</b> .....	<b>131</b>
JÚRI SIMULADO INTERDISCIPLINAR E A SALA DE AULA: TRABALHANDO O PROTAGONISMO E A AUTONOMIA DO EDUCANDO	
Alessandra Martino Ramos de Medeiros	
Rodrigo de Mello	
Lenise Aparecida Martins Garcia	
<b>DOI 10.22533/at.ed.79119250415</b>	
<b>CAPÍTULO 16</b> .....	<b>139</b>
ROSCA, A RECEITA DE APRENDIZAGEM EM AULAS SOBRE FERMENTAÇÃO: UMA EXPERIÊNCIA EM SALA DE AULA DO ENSINO MÉDIO	
Ana Isabel Ribeiro	
<b>DOI 10.22533/at.ed.79119250416</b>	
<b>CAPÍTULO 17</b> .....	<b>142</b>
PRINCIPAIS MOTIVOS LIGADOS A QUEDA EM IDOSOS NO MUNICÍPIO DE CRUZ ALTA/RS	
Giovani Sturmer	
Nathália Arnoldi Silveira	
Mylene Stefany Silva Dos Anjos	
Fabiana de Cássia Romanha Sturmer	
<b>DOI 10.22533/at.ed.79119250417</b>	

<b>CAPÍTULO 18</b> .....	<b>148</b>
UNIVERSIDADE VERSUS EDUCAÇÃO BÁSICA: O DIÁLOGO ENTRE PROFESSORES EM FORMAÇÃO E ESTUDANTES QUE PODEM APRENDER SAÚDE	
Samuel Santos Braga Hermann Vanesca Viana de Oliveira Liziane Martins	
<b>DOI 10.22533/at.ed.79119250418</b>	
<b>CAPÍTULO 19</b> .....	<b>153</b>
AVALIAÇÃO CLÍNICA EM SERPENTES CATIVAS NO CENTRO DE REABILITAÇÃO DE VIDA SILVESTRE EM GUADALAJARA, JALISCO – MÉXICO	
Marina Gonçalves Lima Fernanda de Cássia Gonçalves Alves Luiz Humberto Guimarães Riquelme Junior Daniely Ayabe Curcio Magyda Arabia Araj Dahroug Moussa Paula Helena Santa Rita	
<b>DOI 10.22533/at.ed.79119250419</b>	
<b>CAPÍTULO 20</b> .....	<b>169</b>
SMART CEMETERY (NECROPOLIS) PARA SMART CITY	
Josilaine Aparecida da Silva Thais Cristina Silva Ferreira Paulo Sergio de Sena	
<b>DOI 10.22533/at.ed.79119250420</b>	
<b>CAPÍTULO 21</b> .....	<b>179</b>
UTILIZAÇÃO DE PLANTAS NATIVAS NA RESTAURAÇÃO ECOLÓGICA EM UM TRECHO DE ECOSSISTEMA DE RESTINGA	
Suelen Rodrigues da Conceição Christiano Marcelino Menezes Laila Nazem Mourad	
<b>DOI 10.22533/at.ed.79119250421</b>	
<b>SOBRE O ORGANIZADOR</b> .....	<b>188</b>

## AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE AMILASES POR *Aspergillus awamori* IOC 4142

**Joyce Elise de Campos Pinto**

Universidade Federal de Itajubá- UNIFEI  
Itajubá - MG

**Sabrina Marques Rios**

Universidade Federal de Itajubá- UNIFEI  
Itajubá - MG

**Marcelo Chuei Matsudo**

Universidade Federal de Itajubá- UNIFEI  
Itajubá - MG

**RESUMO:** *Aspergillus awamori* é um microrganismo empregado na produção de enzimas como amiloglucosidase, alfa-amilase e protease. O objetivo deste trabalho foi avaliar a produção de  $\alpha$ -amilase e amiloglucosidase por *Aspergillus awamori*, IOC 4142, em diferentes meios por fermentação submersa (FSm) e em estado sólido (FES). Foram utilizados diferentes substratos: fécula de mandioca, farinha de milho, e biomassa da cianobactéria *Arthrospira platensis*. Nos ensaios realizados para atividade enzimática de  $\alpha$ -amilase não houve diferença estatisticamente significativa entre os meios estudados. Para produção de amiloglucosidase, porém, foi possível observar que as melhores condições para produção foram em meio em FES, com fécula de mandioca como substrato e bagaço de cana-de-açúcar como suporte, apresentando atividade enzimática de 4,957 U.mL<sup>-1</sup> e FSm, com farinha de milho como

substrato e suplementação de sais Khanna [20x], com atividade de 5,890 U.mL<sup>-1</sup>.

**PALAVRAS-CHAVE:** Biocombustível, Microalga, *Aspergillus awamori*,  $\alpha$ -Amilase, Amiloglucosidase.

**ABSTRACT:** *Aspergillus awamori* is a microorganism used in the production of enzymes such as amyloglucosidase, alpha-amylase, and protease. The objective of this study was to evaluate the production of  $\alpha$ -amylase and amyloglucosidase by *Aspergillus awamori*, IOC 4142, in different culture media by submerged fermentation (SF) and solid state fermentation (SSF). Different substrates were used: manioc starch, corn flour, and biomass of the cyanobacterium *Arthrospira platensis*. In the assays performed for  $\alpha$ -amylase activity, there was no statistically significant difference between the culture media studied. For amyloglucosidase production, however, it was possible to observe that the best conditions for production were in SSF media, with manioc starch as substrate and sugarcane bagasse as support, presenting enzymatic activity of 4.957 U.mL<sup>-1</sup>, and SF, with corn flour as substrate and Khanna salt supplementation [20x], with activity of 5,890 U. mL<sup>-1</sup>.

**KEYWORDS:** Biofuel, Microalgae, *Aspergillus awamori*,  $\alpha$ -Amylase, Amyloglucosidase.

## 1 | INTRODUÇÃO

As enzimas apresentam três características em comum: são proteínas, são catalisadores e possuem seletividade nos diversos substratos (DAMODARAM et al., 2010). De maneira geral, a especificidade enzimática permite que cada enzima possua um substrato específico, como por exemplo as amilases, que são enzimas responsáveis pela quebra do amido atuando nas ligações glicosídicas presentes nas cadeias de amilose e amilopectina (SOARES et al., 2010).

Das várias diversas enzimas que são produzidas, as amilases são amplamente estudadas devido à importância da hidrólise do amido para aplicações nas indústrias alimentícias, têxtil e de papel (Gupta et al. 2003; Pandey et al. 2005).

Pandey et al (2005) definem  $\alpha$ -amilase como sendo uma enzima capaz de quebrar as ligações  $\alpha$  (1,4) de polissacarídeos que contém três ou mais unidades de D-glucose em união  $\alpha$ -1,4. A amiloglucosidase, conhecida também como glucoamilase, é uma exoenzima que catalisa a reação de hidrólise das ligações  $\alpha$ -1,4 e  $\alpha$ -1,6 das extremidades não redutoras do amido, convertendo-o em glicose (NATARAJAN 1996).

O *Aspergillus awamori* é um microrganismo amplamente utilizado industrialmente para a produção de enzimas como amiloglucosidase, alfa-amilase e protease, podendo excretar mais de 20 g.L<sup>-1</sup> de amiloglucosidase. Cita-se como vantagem também que esse microrganismo é considerado seguro, não tóxico e não patogênico para a fabricação de produtos alimentícios destinados ao consumo humano (CUI et al., 1998).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a produção de  $\alpha$ -amilase e amiloglucosidase por *Aspergillus awamori* IOC 4142 em meios com diferentes substratos. Essa produção de enzimas amilolíticas faz parte de um projeto para avaliar a hidrólise de biomassa de microrganismos fotossintetizantes, como a cianobactéria *Arthrospira platensis*, para produção de biocombustível de terceira geração.

## 2 | METODOLOGIA

### Micro-organismo

*Aspergillus awamori* (IOC 4142), fungo filamentosos, foi cedido gentilmente pela Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), na forma liofilizada.

### Reativação de Liófilos

Adicionou-se 0,5 ml de água purificada estéril no interior da ampola que continha os fungos na forma liofilizada. Para reidratação a ampola foi levemente agitada e, em seguida, deixada em repouso por 30 minutos, antes da transferência para o meio de cultura. Os sedimentos foram ressuspendidos sendo homogeneizados. E então a suspensão foi transferida para as placas contendo o meio de cultura.

## Preparo de inóculo de *Aspergillus awamori*

O fungo cresceu por 7 dias em placas de petri contendo meio malte-ágar 2% (2g de extrato de malte e 2g de ágar em 100 ml de água destilada).

## Fermentação em estado sólido (FES)

O processo fermentativo em estado sólido ocorreu em frascos de Erlenmeyer de 250 ml, tendo bagaço de cana-de-açúcar como suporte. Para tanto, o bagaço de cana-de-açúcar foi submerso em água quente, seco em estufa e moído em processador doméstico (SPIER, 2005).

Os frascos de Erlenmeyer foram compostos seguindo Spier (2005): adicionou-se 5 g de substrato, 2,5 g de bagaço de cana-de-açúcar (proporção 2 de substrato: 1 de suporte), 0,5 g de NaNO<sub>3</sub>, 1,5 de solução salina e 100 mL de água destilada.

Dois substratos foram testados: fécula de mandioca (marca Amafil) e biomassa da cianobactéria *Arthrospira platensis*, seca e pulverizada.

A solução salina é composta por: 0,4 g/L de ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 2,5 g/L de MgSO<sub>4</sub>, 1,5 g/L KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> e 1000 ml. Os meios foram inoculados com 4 discos de micélio do fungo *Aspergillus awamori* crescido em meio malte-ágar 2%. Adicionalmente, testou-se a adição de 0,25g de CaCO<sub>3</sub>. O pH inicial foi ajustado para 4,0.

A fermentação foi incubada a 30° C por 60 horas. Ao final da fermentação, as enzimas foram recuperadas adicionando-se 50 ml de água destilada ao meio FES, essa solução foi filtrada para remoção dos sólidos obtendo-se um extrato claro. O extrato obtido foi centrifugado a 3000 rpm durante 15 minutos e o sobrenadante foi utilizado para se determinar a atividade enzimática.

## Fermentação submersa (FSm)

Os processos fermentativos em meio líquido ocorreram em frascos de Erlenmeyer de 250 ml. Empregou-se meio conforme Khanna et al. (1995): 0,1 g de extrato de levedura, 1 g de farinha de milho (marca usada: ki-flor), 5 ml de solução de sais de Khanna [20x] em 100mL de água destilada.

A solução de sais de Khanna [20x] é composta por: 2g de NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, 1,3g de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0,0362g de MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 0,098g de KCl, 0,007g de ZnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O, 0,0138g de MnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O, 0,0066g de Fe<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O, 0,0062g de CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O em 100 ml de água destilada.

Testou-se também a substituição de farinha de milho por biomassa da cianobactéria *Arthrospira platensis*.

Os meios foram inoculados com 4 discos micélio do fungo *Aspergillus awamori* crescido em meio malte-ágar 2% por 7 dias.

As fermentações ocorreram durante 72 horas, temperatura de 40° C e pH inicial de 6,5. Ao final da fermentação, as enzimas foram recuperadas centrifugando-se o meio obtido na FSm a 3000 rpm durante 15 minutos e o sobrenadante foi utilizado para se determinar a atividade enzimática.

## Medida da atividade $\alpha$ -amilase

A atividade da  $\alpha$ -amilase foi medida seguindo o método citado por Spier (2005): 0,2 ml do sobrenadante contendo enzima foi misturada a 1,6 ml de uma solução de amido de mandioca solúvel de concentração 10 g/l, em tampão fosfato (pH 6,5) (SAUCEDO-CASTAÑEDA et al, 1992). A incubação foi conduzida a 40°C por: 0, 10, 20 e 30 min. Após os tempos de incubação, as reações foram interrompidas pela adição de 0,2 ml de NaOH 1M.

A determinação do amido consumido é inferida pela quantificação do amido remanente por meio de um método colorimétrico que se baseia na coloração azul desenvolvida quando há a formação do complexo amido-iodo (SOCCOL, 1992). 0,3 ml da solução composta por solução de amido e enzima é misturada com 7,2 ml de solução iodo-iodeto para leitura de absorvância em comprimento de onda de 620 nm. Uma reta padrão foi elaborada correlacionando absorvância e concentração de amido (Spier, 2006). Uma unidade (U) de  $\alpha$ -amilase é definida como a quantidade de enzima capaz de hidrolisar 10 mg de amido em 30 minutos (PANDEY et al, 2005).

## Medida da atividade de amiloglucosidase

A atividade de amiloglucosidase é determinada através da liberação de açúcares redutores, pela reação com o ácido 3,5 dinitrosalicílico, dosados pelo método DNS (MILLER, 1959). Uma unidade de amiloglucosidase é definida como a quantidade de enzima capaz de liberar 1  $\mu$ mol de açúcar redutor, expresso como glicose, por minuto (ALAZARD & RAIMBAULT, 1981).

## Análise Estatística

Os ensaios de cultivos e análises foram realizados em duplicata para tratamento dos dados por análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey, a fim de verificar a existência de diferenças significativas entre as variáveis estudadas, ao nível de 95% de confiança ( $p \leq 0,05$ ), utilizando o software Minitab 17.

## 3 | RESULTADOS

	MEIO	$\alpha$ - amilase (U/ml)	Amiloglucosidase(U/ml)
1	FES <sup>1</sup>	4,755 $\pm$ 0,721 A	4,957 $\pm$ 0,663 A
2	FES com CaCO <sub>3</sub>	6,489 $\pm$ 1,372 A	1,467 $\pm$ 0,1011 B
3	FES com biomassa	3,226 $\pm$ 1,72 A	0,5535 $\pm$ 0,0969 B
4	FES com biomassa e CaCO <sub>3</sub>	4,535 $\pm$ 0,721 A	0,2735 $\pm$ 0,0502 B
5	<sup>2</sup> FSm	4,815 $\pm$ 0,000 A	5,890 $\pm$ 0,834 A
6	FSm com biomassa	6,998 $\pm$ 0,0170 A	1,527 $\pm$ 0,341 B

Tabela 1 – Atividades Enzimáticas (U/ml)

<sup>1</sup>FES: Fermentação em estado sólido

<sup>2</sup>FSm: Fermentação submersa

<sup>AB</sup> Parâmetros que não compartilham letra, em uma mesma coluna, são significativamente diferentes de acordo com o teste de Tukey ( $P > 0,05$ )

Fonte: autor

Para  $\alpha$ -amilase todos os meios apresentam resultado positivo, não há diferença estatisticamente significativa entre os meios estudados. Para produção de amiloglicosidase, porém, foi possível observar que as melhores condições para produção foram em meio em FES, com fécula de mandioca como substrato e bagaço de cana-de-açúcar como suporte, apresentando atividade enzimática de  $4,957 \text{ U/mL}^{-1}$  e FSm, com farinha de milho como substrato e suplementação de sais Khanna [20x], com atividade de  $5,890 \text{ U/mL}^{-1}$ .

#### 4 | DISCUSSÃO

Com a análise estatística (ANOVA) verificou-se que não houve influência estatisticamente significativa dos diferentes meios sobre a produção de  $\alpha$ -amilase ( $p > 0,05$ ), o que indica que qualquer uma das condições poderiam ser adotadas para a produção dessa enzima, especificamente. Entretanto no caso de amiloglicosidase, verificou-se que as diferentes condições experimentais (tipos de meio) influenciaram significativamente a produção desta enzima ( $p < 0,001$ ). Pelo teste de Tukey, pode-se verificar que FES e FSm apresentam as melhores condições. Verificou-se que a substituição dos substratos tradicionais (fécula de mandioca ou farinha de milho) por biomassa da cianobactéria *Arthrospira platensis* não apresentou resultados satisfatórios para produção de amiloglicosidase. Por isso, ensaios futuros serão realizados testando-se uma pulverização mais rigorosa da biomassa ou mesmo um pré-tratamento, como hidrólise, para melhor disponibilização do substrato no meio de cultivo para o fungo.

Spier (2005) utiliza *Aspergillus niger* para produção de enzimas amilolíticas, e utiliza como substrato fécula de mandioca, bagaço-de-cana,  $\text{KNO}_3$  e solução salina suplementada com biotina. O autor obteve, em meio FES, para  $\alpha$ -amilase uma atividade  $47,4685 \text{ U.ml}^{-1}$ , e em meio FES com  $\text{CaCO}_3$  obteve atividade de  $11,0321 \text{ U.ml}^{-1}$ . Para a amiloglicosidase em meio FES obteve atividade de  $73,327 \text{ U.ml}^{-1}$  e de  $18,351 \text{ U.ml}^{-1}$  para FES com  $\text{CaCO}_3$ .

Já Santos et al. (2012) utiliza resíduos agroindustriais, batata e cenoura, para produção de amiloglicosidase por *Aspergillus awamori*, em fermentação a  $30^\circ\text{C}$  por 72 h, sem agitação com pH inicial de 4,2. Nos ensaios com resíduo do processamento de cenoura, o melhor resultado de atividade enzimática obtido foi de  $65,98 \text{ U.mL}^{-1}$ , e nos ensaios com meios contendo 50% do resíduo de cenoura e 50% de resíduo de batata, o melhor resultado foi  $55,8 \text{ U.mL}^{-1}$ . Nos ensaios realizados com o resíduo do processamento de batata, a atividade enzimática obtida foi de  $141,38 \text{ U mL}^{-1}$ , apresentando valores maiores que nos demais ensaios.

Apesar de, no presente trabalho, as atividades enzimáticas (tabela 1) obtidas nos diferentes cultivos serem inferiores aos obtidos por Spier (2005) e Santos et al. (2012), os resultados indicam a viabilidade do emprego de *Aspergillus niger* na produção de

enzimas amilolíticas. Essas enzimas serão avaliadas quanto ao potencial para hidrólise de biomassa de microrganismos fotossintetizantes (cianobactéria e microalga) para obtenção de açúcares fermentescíveis que podem ser empregados para obtenção de bioetanol de terceira geração.

## 5 | CONCLUSÃO

O fungo filamentososo *Aspergillus awamori* é viável para a produção de  $\alpha$ -amilase e amiloglucosidase que, podendo futuramente serem empregados na hidrólise de biomassa de microrganismos fotossintetizantes, para obtenção de bioetanol de terceira geração.

Não houve diferença estatisticamente significativa dos meios empregados para a produção de  $\alpha$ -amilase neste trabalho. No entanto, para a produção de amiloglucosidase, observaram-se melhores resultados com o emprego de fermentação em estado sólido com fécula de mandioca como substrato e bagaço de cana-de-açúcar como suporte, e fermentação submersa com farinha de trigo como substrato e suplementação de sais Khanna [20x].

A substituição de substrato tradicional pela biomassa de *Arthrospira platensis* não apresentou resultado satisfatório para produção de amiloglucosidase. Portanto, pré-tratamentos (hidrólise, por exemplo) ou pulverização mais rigorosa da biomassa serão adotados para futuros ensaios.

## 6 | AGRADECIMENTOS

Agradecimento à Fapemig pela concessão de bolsa de iniciação científica.

## REFERÊNCIAS

ALAZARD, D.; RAIMBAULT, M.; Comparative Study of Amylolytic Enzymes Production by *Aspergillus niger* in Liquid and Solid-State Cultivation. **European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology**, n.12, p.113-117, 1981.

CUI, Y. Q.; VAN DER LANS, R. G. J. M.; GIUSEPPIN, M. L. F.; LUYBEN, K. C. A. M. **Influence of fermentation conditions and scale on the submerged fermentation of *Aspergillus awamori***. *Enzyme and Microbial Technology*, n.23, p.157-167, 1998.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de alimentos**, 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 900 p. 2010.

GUPTA, R.; MOHAPATRA, H.; GOSWAMI, V. K.; CHAUHAN, B. **Microbial  $\alpha$ -Amylases: a Biotechnological Perspective**. *Process Biochem.*, 38:1599-1616. 2003.

GUPTA, R.; MOHAPATRA, H.; GOSWAMI, V.K.; CHAUHAN, B. **Microbial  $\alpha$ -Amylases: a Biotechnological Perspective**. *Process Biochemistry*. Jan. 2003. p. 118. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com>> Acesso em 25 Agosto 2018.

KHANNA P; SUNDARI, S. S.; KUMAR, N. J. **Production, isolation and partial purification of xylanase from *Aspergillus* sp.** World J Microbiol Biotechnol v. 11, p.242–243, 1995.

NATARAJAN, S. K.; SIERKS, M. R. **Identification of enzyme-substrate and enzyme-product complexes in the catalytic mechanism of glucoamylase from *Aspergillus awamori*.** Biochemistry, v. 35, p.15269-15279, 1996.

PANDEY, A.; WEBB, C.; SOCCOL, C. R.; LARROCHE, C. **Enzyme Technology.** 1nd ed. New Delhi: Asiatech Publishers, p.760, 2005.

PEREIRA, V. M., **Avaliação do potencial enzimático de fungos filamentosos e otimização da produção de celulases por *Aspergillus Sulphureus* (Fresen.) Whemer.** Tese (Mestrado em Microbiologia Agrícola) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, p. 50, 2012.

SANTOS L. D. et al TYBEL, utilização de resíduos agroindustriais para produção de amiloglicosidase por *aspergillus awamori*. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, Paraná, v.06, n.01: p.655-664, 2012.

SAUCEDO-CASTANEDA, G. et al. **Mainenance Of Heat And Water Balances As A Scale-Up Criterion For The Production Of Ethanol By *Schwanniomyces Castellii* In A Solid State Fermentation System.** Process Biochemistry. v. 27, p. 97-107, 1992.

SPIER, M. R., **Produção de enzimas amilolíticas fúngicas  $\alpha$ -amilase e amiloglicosidase por fermentação no estado sólido.** Tese (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005. Disponível em : <<https://acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/4684/Disserta%E7%E3o%20de%20Mestrado%20-%20Michele%20Rigon%20Spier.pdf?sequence=1>> acesso em: 8 abr.2018.

SPIER, M. R.; WOICIECHOWSKI, A. L.; VANDENBERGHE, L.; SOCCOL, C. R. **Production and Characterization of Amylases by *Aspergillus niger* under solidstate fermentation using agro industrials products.** Int. J. Food Eng., v.2: p.6-1-19. 2006.

SOARES, I. A.; FLORES, A. C.; ZANETTIN, L.; PIN, H. K.; MENDONÇA, M. M.; BARCELOS, R. P.; TREVISOL, L. R.; CARVALHO, R. D.; SCHAUREN, D.; ROCHA, C. L. M. S. C.; BARONI, S. **Identificação do potencial amilolítico de linhagens mutantes do fungo filamentoso *Aspergillus nidulans*.** Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 30, n. 3, p. 700-705, 2010.

SOCCOL, C.R. **Physiologie et Métabolisme de *Rhizopus* en Culture Solide et Submergée en Relation Avec la Dégradation d'Amidon et la Production d'Acide L(+) Lactique.** Thèse de Doctorat. Mention Génie enzymatique, Bioconversion et Microbiologie, Université de Technologie de Compiègne. Compiègne-France, p. 218, 1992.

## **SOBRE O ORGANIZADOR**

**JOSÉ MAX BARBOSA DE OLIVEIRA JUNIOR** é graduado em Ciências Biológicas (Licenciatura Plena) pela Faculdade Araguaia (FARA). Mestre em Ecologia e Conservação (Ecologia de Sistemas e Comunidades de Áreas Úmidas) pela Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT). Doutor em Zoologia (Conservação e Ecologia) pela Universidade Federal do Pará (UFPA) e Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG). Atualmente é Pós-Doutorando na Universidade do Algarve (UAlg-Portugal), no grupo de Investigação do Centro de Ciências do Mar, Faculdade de Ciências, Ecoreach –Ecologia de ecossistemas ribeirinhos, estuarinos e costeiros. É professor Adjunto I da Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA), lotado no Instituto de Ciências e Tecnologia das Águas (ICTA). Coordenador do Laboratório Multidisciplinar de Gestão Ambiental. Orientador nos programas de Pós-Graduação stricto sensu em Sociedade, Ambiente e Qualidade de Vida (PPGSAQ-UFOPA); Sociedade, Natureza e Desenvolvimento (PPGSND-UFOPA); Biodiversidade (PPGBEES-UFOPA) e Ecologia (PPGECO-UFPA/EMBRAPA). Membro de corpo editorial dos periódicos Enciclopédia Biosfera e Vivências. Tem vasta experiência em ecologia e conservação de ecossistemas aquáticos continentais, integridade ambiental, ecologia geral, avaliação de impactos ambientais (ênfase em insetos aquáticos). Áreas de interesse: ecologia, conservação ambiental, agricultura, pecuária, desmatamento, avaliação de impacto ambiental, insetos aquáticos,

Agência Brasileira do ISBN  
ISBN 978-85-7247-279-1

