

# Ensaaios nas Ciências Agrárias e Ambientais 6

Jorge González Aguilera  
Alan Mario Zuffo  
(Organizadores)



**Atena**  
Editora

Ano 2019

Jorge González Aguilera  
Alan Mario Zuffo  
(Organizadores)

Ensaio nas Ciências Agrárias e  
Ambientais 6

Atena Editora  
2019

2019 by Atena Editora

Copyright © da Atena Editora

Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Diagramação e Edição de Arte: Geraldo Alves e Natália Sandrini

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)

E59 Ensaio nas ciências agrárias e ambientais 6 [recurso eletrônico] /  
Organizadores Jorge González Aguilera, Alan Mario Zuffo. –  
Ponta Grossa (PR): Atena Editora, 2019. – (Ensaio nas  
Ciências Agrárias e Ambientais; v. 6)

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader.

Modo de acesso: World Wide Web.

Inclui bibliografia

ISBN 978-85-7247-042-1

DOI 10.22533/at.ed.421191601

1. Agricultura. 2. Ciências ambientais. 3. Pesquisa agrária -  
Brasil. 4. Tecnologia sustentável. I. Aguilera, Jorge González. II.  
Zuffo, Alan Mario.

CDD 630

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 “*Ensaio nas Ciências Agrárias e Ambientais*” aborda uma série de livros de publicação da Atena Editora, em seu Volume VI, apresenta, em seus 21 capítulos, conhecimentos aplicados nas Ciências Agrárias com um grande apelo Ambiental.

O manejo adequado dos recursos naturais disponíveis na natureza é importante para termos uma agricultura sustentável. Deste modo, a necessidade atual por produzir alimentos aliada à necessidade de preservação e reaproveitamento de recursos naturais, constitui um campo de conhecimento dos mais importantes no âmbito das pesquisas científicas atuais, gerando uma crescente demanda por profissionais atuantes nessas áreas, assim como, de atividades de extensionismo que levem estas descobertas até o conhecimento e aplicação dos produtores.

As descobertas atuais têm promovido o incremento da produção e a produtividade nos diversos cultivos de lavoura. Nesse sentido, as tecnologias e manejos estão sendo atualizadas e, as constantes mudanças permitem os avanços na Ciências Agrárias de hoje. O avanço tecnológico, pode garantir a demanda crescente por alimentos em conjunto com a sustentabilidade socioambiental.

Este volume traz artigos alinhados com a produção agrícola sustentável, ao tratar de temas relacionados com produção e respostas de frutais, forrageiras, hortaliças e florestais. Temas contemporâneos que abordam o melhor uso de fontes nitrogenadas, assim como, adubos biológicos e responsabilidade socioambientais tem especial apelo, conforme a discussão da sustentabilidade da produção agropecuária e da preservação dos recursos naturais.

Aos autores dos diversos capítulos, pela dedicação e esforços sem limites, que viabilizaram esta obra que retrata os recentes avanços científicos e tecnológicos nas Ciências Agrárias e Ambientais, os agradecimentos dos Organizadores e da Atena Editora.

Por fim, esperamos que este livro possa colaborar e instigar aos profissionais das Ciências Agrárias e áreas afins, trazer os conhecimentos gerados nas universidades por professores e estudantes, e pesquisadores na constante busca de novas tecnologias e manejos que contribuam ao aumento produtivo de nossas lavouras, assim, garantir incremento quantitativos e qualitativos na produção de alimentos para as futuras gerações de forma sustentável.

Jorge González Aguilera  
Alan Mario Zuffo

## SUMÁRIO

### **CAPÍTULO 1 ..... 1**

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA DE  $\beta$ -GALACTOSIDASE EM DIFERENTES FAIXAS DE TEMPERATURA E PH

Renata Fialho Teixeira  
Luciano dos Santos Almeida  
Caroline Costa Moraes  
Ana Paula Manera

**DOI 10.22533/at.ed.4211916011**

### **CAPÍTULO 2 ..... 8**

CARACTERIZAÇÃO, ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E ANTIOXIDANTE DO ÓLEO ESSENCIAL DE SEMENTES DE JAMBOLÃO (*SYZYGIUM CUMINI*)

Carla Daiane Lubke Ucker  
Natália Rodrigues Carvalho  
Roberta Carvalho Buchweitz  
Caroline Dellinghausen Borges  
Francine Novack Victoria  
Rui Carlos Zambiasi  
Rogério Antonio Freitag  
Raquel Guimarães Jacob  
Daniela Hartwig de Oliveira  
Eliezer Avila Gandra

**DOI 10.22533/at.ed.4211916012**

### **CAPÍTULO 3 ..... 21**

MANEJO DO NITROGÊNIO NO MILHO: EFEITOS NO DESENVOLVIMENTO DA PLANTA E PRODUTIVIDADE DE GRÃOS

Tiago de Souza Santiago  
Crissogno Mesquita dos Santos  
Debora Novotck Carvalho da Silva  
Marcia Everlane de Carvalho Silva  
Francisca Laila Santos Teixeira  
Joás de Carvalho Almeida  
Alison Veloso da Costa Cunha  
Ângelo Augusto Ebling  
Daiane de Cinque Mariano  
Ricardo Shigueru Okumura

**DOI 10.22533/at.ed.4211916013**

### **CAPÍTULO 4 ..... 33**

MICROPARTICLES OF PURPLE BRAZILIAN CHERRY JUICE: CHARACTERIZATION, RELEASE PROFILE AND FOOD APPLICATION

Josiane Kuhn Rutz  
Caroline Dellinghausen Borges  
Rui Carlos Zambiasi  
Cristina Jansen Alves  
Fernanda Doring Krumreich  
Michele Maciel Crizel-Cardozo

**DOI 10.22533/at.ed.4211916014**

**CAPÍTULO 5 ..... 48**

PLANTAS DE COBERTURA DE INVERNO E A SUA INFLUENCIA SOBRE OS COMPONENTES DE PRODUÇÃO DA CULTURA DA SOJA

Guilherme Guerin Munareto  
Claiton Ruviaro

**DOI 10.22533/at.ed.4211916015**

**CAPÍTULO 6 ..... 61**

POTENCIAL ALELOPÁTICO DE EXTRATO AQUOSO DE PALHA DE CANA-DE-AÇÚCAR SOBRE BUVA (*Conyza canadensis*) E CAPIM AMARGOSO (*Digitaria insularis*)

Daniele Cristina Parthey  
Érick Vinícius Pellizzari  
Pedro Valério Dutra de Moraes  
Ilana Niqueli Talino dos Santos  
Adriana Bezerra de Lima

**DOI 10.22533/at.ed.4211916016**

**CAPÍTULO 7 ..... 65**

PRODUÇÃO DE ALFACE (*LACTUCA SATIVA L.*) UTILIZANDO FONTES ALTERNATIVAS DE ADUBOS EM UM SISTEMA ORGÂNICO

Antonio Geovane de Moraes Andrade  
Glêidson Bezerra de Góes  
Francisca Luiza Simão de Souza  
Rildson Melo Fontenele

**DOI 10.22533/at.ed.4211916017**

**CAPÍTULO 8 ..... 70**

PRODUÇÃO DE FERTILIZANTE NITROGENADO EM FASE AQUOSA POR PLASMA FRIO DE AR ATMOSFÉRICO

Samantha Torres Ohse  
Péricles Inácio Khalaf

**DOI 10.22533/at.ed.4211916018**

**CAPÍTULO 9 ..... 83**

PRODUÇÃO DE MUDAS DE ALFACE EM SUBSTRATOS ALTERNATIVOS

Alan Mario Zuffo  
Jorge González Aguilera  
Roney Eloy Lima  
Rafael Felipe Ratke  
Karen Annie Dias de Moraes  
Werverth Costa Martins  
Amanda Camila Silva Trento  
Jorge Xavier da Silva

**DOI 10.22533/at.ed.4211916019**

**CAPÍTULO 10 ..... 90**

PRODUÇÃO DE MUDAS DE MELANCIA EM SUBSTRATO ENRIQUECIDO COM CINZA VEGETAL

Francisco Ronaldo Alves de Oliveira  
Wallison de Sousa Carvalho  
Lucas dos Santos Silva  
Creiton Sousa Brito  
Maicon Oliveira Miranda  
Oswaldo Nogueira de Sousa Neto

**DOI 10.22533/at.ed.42119160110**

**CAPÍTULO 11 ..... 98**

PRODUÇÃO DE ÓLEO D-LIMONENO A PARTIR DA CASCA DA LARANJA PARA USAR COMO COMBUSTÍVEL EM MOTOR A DIESEL

Letícia de Melo Ferreira Silva  
Emília Juliana Ferreira da Silva  
Henrique John Pereira Neves

**DOI 10.22533/at.ed.42119160111**

**CAPÍTULO 12 ..... 103**

PRODUÇÃO DE SORGO CULTIVAR SS318 EM CULTIVO SOLTEIRO E CONSORCIADO COM FEIJÃO CAUPI EM DOIS ESPAÇAMENTOS

Daniel Parente Barbosa  
Caroline Pimentel Maia  
Andressa Santana Costa  
Andréa Krystina Vinente Guimarães

**DOI 10.22533/at.ed.42119160112**

**CAPÍTULO 13 ..... 110**

PRODUTIVIDADE DA ALFACE LISA EM EMBALAGENS REAPROVEITADAS PARA CULTIVO DE HORTALIÇAS

Edvirges Conceição Rodrigues  
Wânia dos Santos Neves

**DOI 10.22533/at.ed.42119160113**

**CAPÍTULO 14 ..... 116**

QUALIDADE DE GRÃOS DE SOJA TRANSGÊNICA RR E INTACTA RR2 PRO NA SECAGEM

Marília Boff de Oliveira  
Paulo Carteri Coradi  
Sabrina Dalla Corte Bellochio  
Zanandra Boff de Oliveira

**DOI 10.22533/at.ed.42119160114**

**CAPÍTULO 15 ..... 123**

QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE *Moringa oleifera* Lam. SOB A INFLUÊNCIA DO TEGUMENTO

Rosária da Costa Faria Martins  
Madelon Rodrigues Sá Braz  
Mariluci Sudo-Martelleto  
Vânia Rosal Guimarães Nascimento

**DOI 10.22533/at.ed.42119160115**

**CAPÍTULO 16 ..... 133**

QUALIDADE TECNOLÓGICA DE FEIJÃO BRS ESTILO SUBMETIDO À DIFERENTES TEMPERATURAS DE SECAGEM

Geraldo Acácio Mabasso  
Valdiney Cambuy Siqueira  
Maria Heloisa Junqueira  
Wellytton Darci Quequeto  
Rafael Araújo Leite  
Vanderleia Schoeninger  
Tábata Zingano Bischoff Soares

**DOI 10.22533/at.ed.42119160116**

**CAPÍTULO 17 ..... 147**

QUANTIFICAÇÃO DA FITOMASSA PARA A COBERTURA DO SOLO EM PLANTIO IRRIGADO

Jonatan Levi Ferreira de Medeiros  
Priscila Pascali da Costa Bandeira  
Poliana Maria da Costa Bandeira  
Suedêmio de Lima Silva  
Ana Beatriz Alves de Araújo  
Erllan Tavares Costa Leitão  
Joaquim Odilon Pereira

**DOI 10.22533/at.ed.42119160117**

**CAPÍTULO 18 ..... 154**

RENDIMENTO BIOLÓGICO E COMPONENTES MORFOLÓGICOS DE CULTIVARES DE SOJA COM DIFERENTES GRUPOS DE MATURAÇÃO SUBMETIDOS A DESFOLHA NOS ESTÁDIOS V6 E R3

Murilo Miguel Durlí  
Lucieli Santini Leolato  
Vander Liz de Oliveira  
Hugo François Kuneski  
Thais Lemos Turek  
Marcos Cardoso Martins Júnior

**DOI 10.22533/at.ed.42119160118**

**CAPÍTULO 19 ..... 160**

RESPOSTA DO TEOR DE CLOROFILA DA ALFACE À CLIMATOLOGIA DE BOM JESUS-PI

Lucas Carvalho Soares  
Gabriel Siqueira Tavares Fernandes  
Edivania de Araujo Lima  
Poline Sena Almeida  
Adriana Ursulino Alves

**DOI 10.22533/at.ed.42119160119**

**CAPÍTULO 20 ..... 167**

TEOR DE MATÉRIA ORGÂNICA DE UM NEOSSOLO QUARTZARÊNICO SUBMETIDO À APLICAÇÃO DE ÁGUA RESIDUÁRIA DA MANDIOCA

Éric George Morais  
Márcio Gleybson da Silva Bezerra  
Francisco Flavio da Silva Filho  
Gabriel Felipe Rodrigues Bezerra  
Daniel Nunes da Silva Júnior  
Gualter Guenther Costa da Silva

**DOI 10.22533/at.ed.42119160120**

**CAPÍTULO 21 ..... 176**

SUPERAÇÃO DE DORMÊNCIA EM SEMENTES DE MULUNGU (*ERYTHRINA VELUTINA WILD.*)

Natália Teixeira de Lima  
Maria Herbênia Lima Cruz Santos  
Zézia Verônica Silva Ramos Oliveira  
Emanuel Ernesto Fernandes Santos  
Davy Lima de Souza  
Lígia Anny Alves de Carvalho

**DOI 10.22533/at.ed.42119160121**

**SOBRE OS ORGANIZADORES..... 182**

## AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA DE $\beta$ -GALACTOSIDASE EM DIFERENTES FAIXAS DE TEMPERATURA E PH

### **Renata Fialho Teixeira**

Universidade Federal do Pampa, Engenharia de Alimentos

Bagé – Rio Grande do Sul

### **Luciano dos Santos Almeida**

Universidade Federal do Pampa, Engenharia de Alimentos

Bagé – Rio Grande do Sul

### **Caroline Costa Moraes**

Universidade Federal do Pampa, Engenharia de Alimentos

Bagé – Rio Grande do Sul

### **Ana Paula Manera**

Universidade Federal do Pampa, Engenharia de Alimentos

Bagé – Rio Grande do Sul

**RESUMO:** Enzimas são catalisadores biológicos de natureza proteica que possuem grande interesse na área da indústria de alimentos. A  $\beta$ -galactosidase é uma hidrolase estável em baixos valores de pH e temperaturas moderadas, que atua na hidrólise da lactose e é conhecida pela sua atividade de galactosiltransferase, responsável pela síntese de galacto-oligossacarídeos que podem ser aplicados em alimentos com potenciais benefícios à saúde. Nesse contexto, o trabalho teve por objetivo determinar a atividade enzimática, da  $\beta$ -galactosidase obtida pelo

fungo filamentosso *Aspergillus niger*, através de reação enzimática em diferentes condições de temperatura e pH. Para a determinação da atividade enzimática, o substrato 2-nitrofenil  $\beta$ -D-galactopiranosídeo (ONPG) foi utilizado e determinada uma faixa de pH mais próxima ao ácido, variando de 3,0 a 7,5, e a temperatura do banho foi fixada em 40°C. Posteriormente, com o valor de pH ótimo definido para máxima atividade da enzima, novos ensaios foram realizados em temperaturas distintas na faixa entre 30 e 70°C. Em pH mais ácidos houve um aumento da atividade enzimática, sendo o pH de 4,5 considerado o ótimo obtido pela máxima atividade da enzima. Acima deste valor, foram constatados indícios de desnaturação pela queda acentuada da atividade enzimática. A condição de temperatura ótima foi encontrada na faixa de 55 e 65°C, com melhor resultado em 60°C. No entanto, foi observado um decréscimo na atividade em temperaturas inferiores, e superiores às relatadas, devido à inibição da enzima em baixas temperaturas e, inativação por desnaturação proteica, respectivamente. Através do estudo foi possível constatar que as reações enzimáticas são fortemente influenciadas por pequenas alterações, principalmente da temperatura e do pH. O pH de 4,5 foi considerado o ótimo para a determinação da melhor temperatura, de 60°C, com atividade máxima de 67,7 U.mL<sup>-1</sup>.

**PALAVRAS-CHAVE:** lactase, temperatura ótima, pH ótimo, *Aspergillus niger*

**ABSTRACT:** Enzymes are protein-nature biological catalysts of great interest in the food industry field.  $\beta$ -galactosidase is a hydrolase that is stable at low pH and high temperatures that acts in the lactose hydrolysis and is known for its galactosyltransferase activity, responsible for the synthesis of galactooligosaccharides that can be applied in foods with potential health benefits. In this context, the objective of this work was to determine the enzymatic activity of  $\beta$ -galactosidase obtained from the filamentous fungus *Aspergillus niger*, through an enzymatic reaction under different temperature and pH conditions. For the enzymatic activity evaluation the substrate 2-nitrophenyl  $\beta$ -D-galactopyranoside (ONPG) was applied and a pH range closer to that of the acid was determined, ranging from 3.0 to 7.5, and the bath temperature was set at 40°C. Subsequently, with the optimum pH value defined for maximum activity of the enzyme, new tests were performed at different temperatures in the range between 30 and 70°C. In acidic pH there was an increase in the enzymatic activity, being the pH of 4.5 considered the optimum obtained by the maximum activity of the enzyme. Above this value, evidence of denaturation was observed due to the sharp drop in enzymatic activity. The optimum temperature condition was found in the range of 55 and 65°C, with best result at 60°C. However, a decrease in activity was observed at lower temperatures, and higher than those reported, due to inhibition of the enzyme at low temperatures and inactivation by protein denaturation, respectively. With this study, it was possible to verify that the enzymatic reactions are influenced by small changes, mainly on temperature and pH. The pH of 4.5 was considered the optimum for the determination of the best temperature, of 60°C, with maximum activity of 67.7 U.mL<sup>-1</sup>.

**KEYWORDS:** lactase, optimal temperature, optimum pH, *Aspergillus niger*

## 1 | INTRODUÇÃO

Enzimas são proteínas produzidas por todos os organismos vivos. Consideradas catalisadores biológicos altamente específicos, por atuarem em condições parcialmente moderadas, tornam-se ideal para utilização na tecnologia de alimentos em que a indústria necessita modificar matérias-primas alimentícias sem destruir seus nutrientes essenciais (ENZIMAS..., 2011). A aplicação industrial de enzimas é estabelecida pela especificidade, atividade, estabilidade de armazenamento, disponibilidade e custos que apresentam, sendo sua atividade determinada pela concentração de enzima e substrato presentes, bem como, presença, concentração e tipos de cofatores e inibidores, pH, temperatura e tempo de reação (COURI; DAMASO, 2017).

Nesse contexto, a  $\beta$ -galactosidase (E.C. 3.2.1.23) ou lactase, é uma importante enzima utilizada industrialmente em aplicações tecnológicas onde, a de *Aspergillus niger* encontra particular interesse devido à sua estabilidade em baixos valores de pH e temperaturas elevadas (OLIVEIRA, 2005). Esta enzima é utilizada na hidrólise da lactose, obtendo leite e derivados lácteos com baixo teor deste carboidrato, tornando

estes alimentos ideais para consumidores intolerantes a este dissacarídeo (HEYMAN, 2006; PANESAR et al., 2006). Hudson (2011) relata que cerca de 75% da população mundial apresenta algum grau de intolerância à lactose.

Além disso, a importância desta enzima é reforçada pela sua atividade de galactosiltransferase, responsável pela síntese de galacto-oligosacarídeos (GOS), estes que podem ser adicionados aos alimentos tornando-os funcionais, trazendo assim, diversos efeitos benéficos aos consumidores (CRUZ et al., 1999).

Tendo em vista a importância na utilização da enzima  $\beta$ -galactosidase na indústria de alimentos, o trabalho teve por objetivo determinar a atividade enzimática, da enzima obtida pelo fungo filamentososo, *Aspergillus niger*, através de reação enzimática em diferentes condições de temperatura e pH.

## 2 | METODOLOGIA

Os ensaios reacionais foram realizados com a enzima  $\beta$ -galactosidase de origem fúngica, obtida de *Aspergillus niger* (Megazyme®).

Para a determinação da atividade enzimática da  $\beta$ -galactosidase, o substrato empregado foi o 2-nitrofenil  $\beta$ -D-galactopiranosídeo (ONPG), cujo preparo foi realizado através da adição da solução tampão fosfato de potássio monobásico anidro 50 mM com cloreto de manganês tetra hidratado 0,1 mM. Os reagentes foram então pesados, dissolvidos em água e os valores de pH desejados foram ajustados com solução de hidróxido de potássio 2 N (INCHAURRONGO et al., 1994). Análises preliminares foram feitas de modo a determinar a diluição de enzima ideal para a obtenção de valores de absorvância na faixa entre 0,2 e 0,8.

Para a realização da análise da atividade enzimática em pH distintos, a temperatura do banho foi fixada em 40°C. No entanto, partindo do princípio que os melhores valores de atividade para enzimas de origem fúngica são obtidos em faixas de pH mais próximas do ácido, foram utilizados dez valores diferentes, sendo estes de 3,0; 3,5; 4,0; 4,5; 5,0; 5,5; 6,0; 6,5; 7,0 e 7,5. Primeiramente, foi feita a adição de 2 mL de ONPG em cinco tubos de ensaio para cada valor de pH estudado, os quais foram colocados em banho agitado à 40°C. A seguir, foi adicionado aos tubos 0,05 mL da enzima diluída, acionando o cronômetro para o tempo de reação de 5 min. Depois de esgotado o tempo, adicionou-se 0,5 mL da solução de carbonato de sódio 1 M, de modo que a reação fosse cessada. Paralelamente realizou-se um branco, onde a enzima foi substituída por água. Os tubos foram então retirados do banho e encaminhados ao espectrofotômetro, cuja leitura de absorvância a 420 nm foi determinada. Em seguida calculou-se o valor da atividade enzimática em que uma unidade de atividade enzimática (U) é definida como sendo a quantidade de enzima necessária para liberar 1  $\mu$ mol de *o*-nitrofenol produzido por minuto, sob as condições do ensaio.

Após obtido o valor de pH ótimo para que houvesse máxima atividade da enzima, foram realizados nove ensaios a diferentes temperaturas, sendo estas de 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65 e 70°C, a fim de determinar a faixa de temperatura ótima da enzima, de acordo com a metodologia descrita anteriormente.

### 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através da média dos valores da atividade enzimática da  $\beta$ -galactosidase obtidos nos ensaios realizados a temperatura constante de 40°C com diferentes faixas de pH de 3 a 7,5, foi possível obter o gráfico da atividade enzimática vs. pH (Figura 1).

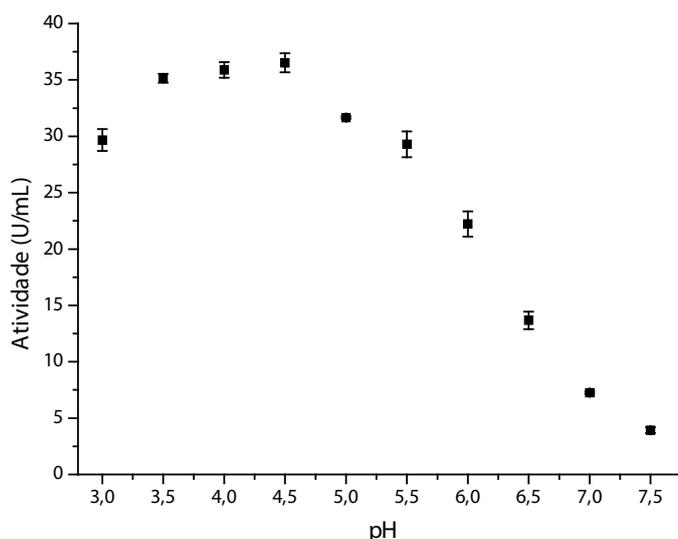


Figura 1. Curva da atividade enzimática da lactase a 40°C em valores de pH entre 3 e 7,5.

Fonte: Autores (2018).

Observa-se que, nos pH mais ácidos, entre 3 e 4,5, ocorre um aumento da atividade enzimática, indicando uma ativação da enzima com o acréscimo no valor de pH, em contrapartida, a partir do pH 4,5 ocorre uma diminuição da atividade enzimática, indicando uma desnaturação da enzima, e conforme o pH se aproxima mais da neutralidade (pH 7), a queda na atividade enzimática é mais acentuada. Desta forma, o pH ótimo verificado pela máxima atividade enzimática (36,5 U.mL<sup>-1</sup>), foi o de 4,5, o que corrobora com estudos encontrados na literatura.

Segundo Barbosa e Araújo (2007), em geral, as preparações comerciais de lactases provenientes de fungos, especialmente *A. niger* e *A. oryzae*, são importantes quando as condições operacionais estão em pH entre 2,5 e 4,5, com temperatura ótima entre 30 e 40°C em processos alimentícios. Lima, Lima e Gerald (1982), ao estudarem a mesma enzima de *A. niger*, também observaram que na faixa de pH entre 2,6 e 5,4, a atividade foi bastante elevada, evidenciando uma faixa de maior estabilidade, sendo seu pH ótimo atingido em 4,4.

A partir da obtenção do valor de pH ótimo para máxima atuação da lactase (pH

4,5), foi possível avaliar a atividade enzimática em diferentes temperaturas, visando obter a temperatura ótima da enzima (Figura 2).

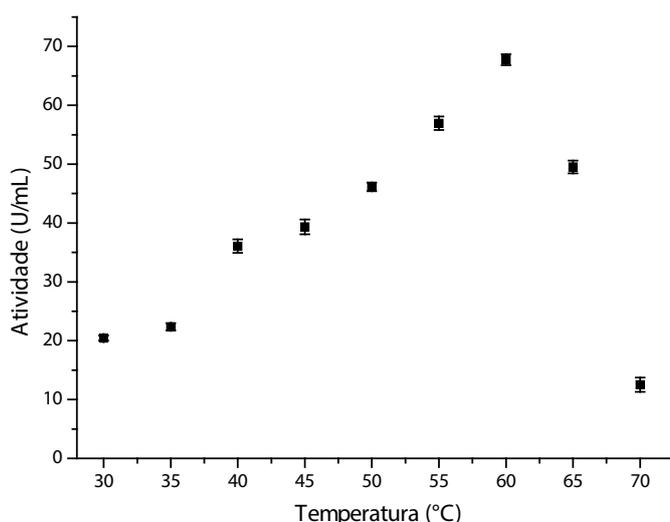


Figura 2. Gráfico da atividade enzimática da lactase em pH 4,5 em diferentes temperaturas.

Fonte: Autores (2018).

No presente estudo, a temperatura ótima encontrada foi de 60°C em pH 4,5, no entanto, as temperaturas de 55 e 65°C apresentaram valores não muito inferiores aos da temperatura de 60°C. Em temperaturas de 30 e 70°C, os valores encontrados foram menores ou iguais a 20,0 U.mL<sup>-1</sup>, demonstrados pelo início da curva e seu decréscimo final, possivelmente ocasionados pela baixa temperatura inicial utilizada, insuficiente para alcançar o ótimo da reação, bem como, pela inativação da enzima por desnaturação proteica, respectivamente.

Lima, Lima e Gerald (1982), analisando os dados obtidos em suas análises com a enzima  $\beta$ -galactosidase de *Spicaria sp* e *Aspergillus niger*, observaram que na temperatura de 35°C, a atividade enzimática foi relativamente baixa para ambos os micro-organismos, o que se deve ao fato de que a temperatura não foi suficiente para efetuar a reação enzimática de hidrólise do substrato ONPG. No entanto, observando a atividade da enzima na faixa entre 35 e 65°C, verificaram um aumento até o valor máximo estudado, sendo a temperatura ótima atingida a 65°C para ambas; em valores de temperatura acima de 65°C, a atividade enzimática diminuiu consideravelmente, indicando uma rápida desnaturação pelo calor.

De acordo com Carminatti (2001), as reações enzimáticas são fortemente dependentes de uma temperatura ótima que influencia diretamente a atividade da enzima, aumentando a velocidade da reação e, por consequência, a conversão de substrato em produtos. Temperaturas abaixo desta faixa inibem sua atividade e, em temperaturas muito superiores, ocorre a inativação da enzima, devido à desnaturação da mesma. Dessa forma, o conhecimento da faixa de atividade ótima para cada enzima é fundamental para a otimização dos processos envolvendo reações enzimáticas.

Wierzbicki e Kosikowski (1973), ao estudarem a enzima  $\beta$ -galactosidase

proveniente de *A. niger*, utilizando lactose do soro de leite como substrato e, de *A. oryzae*, utilizando ONPG, encontraram as mesmas condições de temperatura e pH ótimos, sendo estes de 55°C e entre 3,5 a 4,5, respectivamente. Bosso (2012), ao avaliar as melhores condições da enzima  $\beta$ -galactosidase de *A. oryzae*, utilizando como substrato lactose do soro de leite, verificou que a mesma, obteve melhores resultados em temperatura de 55°C e pH 5,0. No entanto, a de *K. lactis* apresentou como condições ótimas, temperatura de 40°C e pH 7,0, o que demonstra que enzimas de micro-organismos de gêneros diferentes, apresentam diferentes condições de atuação e propriedades.

## 4 | CONCLUSÕES

Ao estudar o pH e temperatura ótimos para a enzima  $\beta$ -galactosidase de *A. niger* foi possível observar a influência ocasionada nos valores da atividade enzimática frente a pequenas alterações. O pH ótimo utilizado para a obtenção da melhor temperatura foi de 4,5 com atividade máxima de 36,5 U.mL<sup>-1</sup>, sendo a temperatura ótima de 60°C e atividade de 67,7 U.mL<sup>-1</sup>.

Dessa forma, foi constatado que variações nas condições operacionais de temperatura e pH apresentam influência considerável no valor obtido para a atividade enzimática máxima.

## AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Desenvolvimento Acadêmico (PDA Pesquisa – Unipampa) ao CNPq e à FAPERGS.

## REFERÊNCIAS

BARBOSA, M. R.; ARAÚJO, E. H. Estudo da produção da enzima lactase utilizando soro de queijo e fungo filamentoso *Aspergillus niger*. **Horizonte Científico**, v.1, n.1, p. 1-22, 2007.

BOSSO, A. Atividade enzimática e estabilidade térmica da B-galactosidase de *Kluveromyces lactis* e *Aspergillus oryzae*. Dissertação (Mestrado) – UNOPAR, Londrina, 2012, 64 p.

CARMINATTI, C. A. **Ensaio de hidrólise enzimática da lactose em reator a membrana utilizando beta-galactosidase *Kluyveromyces lactis***. 2001, 66f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

COURI, S.; DAMASO, M. C. T. **Enzimáticos**. Agência Embrapa de Informação Tecnológica. Acessado em 11 out. 2017. Disponível em: <[http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/tecnologia\\_de\\_alimentos/arvore/CONT000fid5sgif02wyiv80z4s473v6o7sud.html#>](http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/tecnologia_de_alimentos/arvore/CONT000fid5sgif02wyiv80z4s473v6o7sud.html#>)

CRUZ, R. et al. Production of transgalactosylated oligosaccharides (TOS) by galactosyltransferase activity from *Penicillium simplicissimum*. **Bioresource Technology**, v. 2, p.165, 1999.

ENZIMAS: natureza e ação nos alimentos. **Food Ingredients Brasil**, n. 16, p. 26-37, 2011. Disponível em: <<http://www.revista-fi.com/materias/166.pdf>>. Acesso em 11 out. 2017.

HEYMAN, M. B. Lactose intolerance in infants, children, and adolescents. **American Academy of Pediatrics**, v. 118, n. 3, p. 1278-1287, 2006.

HUDSON, E. Alimentos sem lactose mantêm apelo global. **Revista Aditivos e Ingredientes**, n. 77, 2011.

INCHAURRONDO, V. A. et al. Yeast growth and  $\beta$ -galactosidase production during aerobic batch cultures in lactose-limited synthetic medium. **Process Biochemistry**, v.29, p.47-54, 1994.

LIMA, C. A. A.; LIMA, E. D. P. A.; GERALD, L. T. S. Obtenção e caracterização da enzima  $\beta$ -galactosidase de origem fúngica. **Agropecuária Técnica**, v. 3, n. 1, p. 73-80, 1982.

OLIVEIRA, C. C. M. **Produção de  $\beta$ -galactosidase por levedura recombinante: Desenvolvimento de um sistema de produção estável**. 2005, 100f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade do Minho, Braga.

PANESAR, P. S., et al. Review: Microbial production, immobilization and applications of  $\beta$ -D-galactosidase. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 81, p. 530-543, 2006.

WIERZBICKI, L. E.; KOSIOWSKI, F. V. Kinetics of lactose hidrólisis in acid whey by  $\beta$ -galactosidase from *Aspergillus niger*. **J. Dairy Science**, p. 1396-1399, 1973.

## SOBRE OS ORGANIZADORES

**JORGE GONZÁLEZ AGUILERA** Engenheiro Agrônomo (Instituto Superior de Ciências Agrícolas de Bayamo (ISCA-B) hoje Universidad de Granma (UG)), Especialização em Biotecnologia Vegetal pela Universidad de Oriente (UO), CUBA (2002), Mestre em Fitotecnia (UFV/2007) e Doutorado em Genética e Melhoramento (UFV/2011). Atualmente, é professor visitante na Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS) no Campus Chapadão do Sul. Têm experiência na área de melhoramento de plantas e aplicação de campos magnéticos na agricultura. Tem atuado principalmente nos seguintes temas: pre-melhoramento, fitotecnia e cultivo de hortaliças, estudo de fontes de resistência para estres abiótico e biótico, marcadores moleculares, associação de características e adaptação e obtenção de *vitroplantas*. Tem experiência na multiplicação “*on farm*” de insumos biológicos (fungos em suporte sólido; *Trichoderma*, *Beauveria* e *Metharrizum*, assim como bactérias em suporte líquido) para o controle de doenças e insetos nas lavouras, principalmente de soja, milho e feijão. E-mail para contato: [jorge.aguilera@ufms.br](mailto:jorge.aguilera@ufms.br)

**ALAN MARIO ZUFFO** Engenheiro Agrônomo (Universidade do Estado de Mato Grosso – UNEMAT/2010), Mestre em Agronomia – Produção Vegetal (Universidade Federal do Piauí – UFPI/2013), Doutor em Agronomia – Produção Vegetal (Universidade Federal de Lavras – UFLA/2016). Atualmente, é professor visitante na Universidade Federal do Mato Grosso do Sul – UFMS no Campus Chapadão do Sul. Tem experiência na área de Agronomia – Agricultura, com ênfase em fisiologia das plantas cultivadas e manejo da fertilidade do solo, atuando principalmente nas culturas de soja, milho, feijão, arroz, milheto, sorgo, plantas de cobertura e integração lavoura pecuária. E-mail para contato: [alan\\_zuffo@hotmail.com](mailto:alan_zuffo@hotmail.com)

Agência Brasileira do ISBN  
ISBN 978-85-7247-042-1



9 788572 470421