



APLICAÇÕES DE ENZIMAS EM ALIMENTOS E ESTUDO DA PRODUÇÃO DE ENZIMAS AMILOLÍTICAS E PROTEOLÍTICAS POR MICRO-ORGANISMOS

Marina Beatriz Cabral Pechetto, Milena De L. Silva*, Pedro Beraldo Masanao Hirata, Helia Harumi Sato

Resumo

No estudo da produção de alfa-amilase em frascos Erlenmeyer, as linhagens de *Bacillus* sp 25-4, 68-2 e 107-1 apresentaram 9,8; 8,0 e 7,1 $\mu\text{g/mL}$ de alfa-amilase após 48h de fermentação a 37 °C e 150 rpm, enquanto que as linhagens *Bacillus* sp 27-2, 107-1 e 108-3 apresentaram 7,0; 8,5 e 8,3 $\mu\text{g/mL}$ após 72h a 37°C, respectivamente. Entre as 52 linhagens testadas, quanto à produção de ciclodextrina-glicosiltransferase em teste qualitativo em placas de petri as linhagens CD1 e CD2 e *Bacillus* sp 60, 72, 78, 81, 85, 120 apresentaram teste positivo, mas não produziram essa enzima em frascos Erlenmeyer agitados a 35°C, e determinação da atividade em pH 6, 7 e 8 a 50°C, 55°C e 60°C. No estudo de produção de enzimas proteolíticas em frascos Erlenmeyer agitados as linhagens de *Bacillus* sp 27 e 42 apresentaram 0,115 e 0,27 U/mL usando azocaseína como substrato. Foram testadas os efeitos e aplicações de enzimas como alfa-amilases, proteases e outras enzimas em alimentos.

Palavras-chave:

Enzimas amilolíticas, enzimas proteolíticas, produção e aplicação de enzimas.

Introdução

As alfa-amilases hidrolisam as ligações alfa-1,4 glicosídicas do amido e são utilizadas nas indústrias de alimentos para hidrólise do amido, em panificação, bebidas fermentadas, etc. As ciclodextrina-glicosiltransferases hidrolisam o amido e produzem ciclodextrinas. As ciclodextrinas de 6 a 8 unidades de glicose podem ser aplicadas na remoção do gosto amargo em sucos de frutas cítricas, na descafeinação de café, complexação de compostos de aroma e cor, entre outros. As proteases catalisam a hidrólise das ligações peptídicas de proteínas e podem ser aplicadas na obtenção de hidrolisados proteicos, coagulação de proteínas do leite, tratamento de couro, em sabão em pó, etc.

Resultados e Discussão

No estudo qualitativo de produção de alfa-amilase por linhagens de *Bacillus* sp as 3, 25, 27, 107, 108 e 113, em placas de petri, apresentaram maior índice enzimático. No estudo da produção de alfa-amilase em frascos Erlenmeyer, as linhagens *Bacillus* sp 25-4, 68-2, 107-1 e 108-3 apresentaram maior atividade de alfa-amilase (9,8; 8,0; 7,1 e 4,8 $\mu\text{g/mL}$) após 48h a 37°C e 200 rpm. As linhagens 27-2, 107-1 e 108-3 apresentaram 7; 8,5 e 8,3 $\mu\text{g/mL}$ de α -amilase após 72h a 37°C e 200 rpm (Tabela 1). Já nos estudos de produção de protease em frascos Erlenmeyer as linhagens de *Bacillus* sp 3, 27, 41 e 42 apresentaram 0,0650; 0,115; 0,06; 0,027 e 0,001 U/mL.

Figura 1- Teste qualitativo de produção de alfa-amilase (A), ciclodextrina-glicosiltransferase (B) e protease (C).

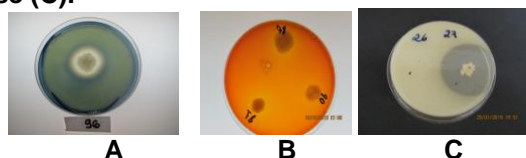


Figura 2- Efeito do excesso de alfa-amilase em pães



(A=controle e B=teste)

Tabela 1. Produção de alfa-amilase pelas linhagens de *Bacillus* sp em frascos Erlenmeyer a 37°C.

Linhagens	Atividade de alfa-amilase ($\mu\text{g/mL}$)	
	48h de incubação	72h de incubação
3-3	0	0
16-1	0	0
25-4	9,8	0
27-2	0	7,0
68-2	8,0	0
107-1	7,1	8,5
108-3	4,8	8,3
113-1	0	0

Conclusões

As linhagens *Bacillus* sp 25-4 e 68-2 produziram maior atividade de α -amilase (9,8 e 8,0 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente) após 48h de fermentação a 37°C enquanto que as linhagens 107-1 e 108-3 produziram 8,5 e 8,3 $\mu\text{g/mL}$ após 72h de fermentação a 37°C. As linhagens 27 e 42 apresentaram maior atividade de protease (0,115 e 0,27 U/mL). Diversas linhagens de *Bacillus* sp apresentaram teste qualitativo positivo para ciclodextrina-glicosiltransferase e mais estudos são necessários para otimização das condições de produção dessa enzima.

Agradecimentos

Agradecemos ao CNPq e à Unicamp pela oportunidade de participar deste projeto tão inclusivo e importante para alunos da rede pública. Também dedicamos este trabalho à Profª Hélia por sua paciência e dedicação para com o nosso projeto e pelo carinho que ela demonstrou a nós. Agradecemos também toda a equipe do laboratório pelas risadas, café e ajudas.

CASTRO, R.J.S. SATO, H.H. Synergistic effects of agroindustrial wastes on simultaneous production of protease and α -amylase under solid state fermentation using a simplex centroid mixture design. *Ind. Crops. Prod.* 49, 813-821, 2013

CASTAÑEDA-AGULLÓ; M. Studies on the biosynthesis of extracellular proteases by bacteria. *The Journal of General Microbiology.* v. 89, p. 369-373, 1956

CHARNEY, J. TOMARELLI, R.M. A colorimetric method for the determination of proteolytic activity of duodenal juice. *J. Biol. Chem.* v.170, p. 501-505, 1947.

GOEL, A.; NENE, S. A novel cyclodextrin glucoanotransferase from *Bacillus firmus* that degrades raw starch. *Biotechnology Letters* v. 17, n4, p.411-416, 1995