



<b>Evento</b>	Salão UFRGS 2014: SIC - XXVI SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
<b>Ano</b>	2014
<b>Local</b>	Porto Alegre
<b>Título</b>	Determinação das condições de extração de enzimas pectinolíticas produzidas por <i>Aspergillus niger</i>
<b>Autor</b>	DANUZA DA ROCHA RENOSTO
<b>Orientador</b>	MAURICIO MOURA DA SILVEIRA
<b>Instituição</b>	Universidade de Caxias do Sul

As enzimas pectinolíticas, ou pectinases, produzidas principalmente por fungos filamentosos, têm como função a degradação de substâncias pécnicas. Essas enzimas são classificadas quanto ao seu modo de ação, preferência ao substrato e em enzimas ácidas ou alcalinas. As pectinases ácidas têm seu uso destinado à aplicação industrial, especialmente no processamento de sucos de frutas, objetivando clarificar e reduzir a viscosidade e também aumentar o rendimento na etapa de extração. Sua produção é feita por processo fermentativo, submerso ou em estado sólido. O processo em estado sólido se caracteriza pelo cultivo de microrganismos sobre substratos sólidos, sem a presença de água livre, com aproveitamento de resíduos da agroindústria, visando à obtenção de produtos de grande interesse industrial e alto valor agregado como as pectinases. O fungo filamentoso da espécie *Aspergillus niger* é um dos mais utilizados na produção de pectinases, já que seus metabólitos são considerados seguros, podendo ser utilizado na indústria de alimentos. Após o processo em estado sólido, as enzimas precisam ser recuperadas a partir do meio por extração com solventes. Neste trabalho, buscando aperfeiçoar o processo de extração, estudaram-se as melhores condições para isso através da avaliação de três parâmetros: tempo, temperatura de extração e razão sólido/líquido.

Para a produção das enzimas, utilizou-se um biorreator de tambor rotativo, tendo como meio de cultivo uma mistura de farelo de trigo, glicose, pectina e sais nutrientes, que inoculado com  $10^7$  esporos de *A. niger* por grama de massa úmida. O tempo de cultivo foi 96 h. A extração – em razão sólido / líquido (massa seca de meio / por volume de água pH 4,0) de 1/15 – foi avaliada em tempo entre 15 e 120 minutos, a 20°C, e a temperatura de extração entre 20 e 40°C, por 60 minutos. A razão de extração sólido/líquido (S/L) foi testada na faixa de 1/5 a 1/60, variando-se a massa de meio em um volume fixo de 30 mL de solvente, a 20°C, por 60 minutos. As extrações foram realizadas sob agitação recíproca de 200 rpm, seguida de centrifugação e filtração em papel-filtro. A determinação da atividade de pectinases totais foi medida pela redução de viscosidade da solução de pectina cítrica (0,5% m/v), em tampão acetato 0,05 M pH 4,0. A determinação quantitativa das proteínas foi realizada pelo método colorimétrico de Bradford (1976).

Com relação ao tempo de extração, foi observado que não houve diferença significativa entre os testes, uma vez que a concentração das proteínas e a atividade das pectinases totais se mostraram uniformes, em torno de 84 µg/mL e 5 U/mL, respectivamente. Assim, determinou-se 60 minutos como tempo ideal para extração. Entretanto, o aumento da temperatura a 40°C provocou um efeito negativo sobre a atividade enzimática. No caso, a mesma concentração de proteínas foi observada em todas as temperaturas, havendo, porém, redução de 43% da atividade nesta condição, sugerindo que a estabilidade enzimática foi afetada. O teste de variação da razão S/L apontou que com 1/10 pôde-se recuperar uma maior atividade enzimática, 16,5 U/mL, acompanhada também de uma maior extração proteica, 725 µg/mL.

Neste trabalho, a definição dos melhores níveis de operação para os parâmetros fundamentais da extração de pectinases de meio de cultivo sólido proporcionou a obtenção de uma solução de enzimas com maior atividade, favorecendo, deste modo, a próxima etapa da recuperação, a concentração das enzimas.