

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIAS**

CINTHIA APARECIDA DE ANDRADE SILVA

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE
Lichtheimia ramosa EM RESÍDUOS DE FRUTOS DO CERRADO
VIA BIOPROCESSO EM ESTADO SÓLIDO**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
AMBIENTAL**

**DOURADOS/MS
FEVEREIRO/2012**

CINTHIA APARECIDA DE ANDRADE SILVA

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE
Lichtheimia ramosa EM RESÍDUOS DE FRUTOS DO CERRADO
VIA BIOPROCESSO EM ESTADO SÓLIDO**

ORIENTADOR: Prof. Dr. GUSTAVO GRACIANO FONSECA

Dissertação de mestrado submetida ao programa de pós-graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, como um dos requisitos necessários para a obtenção do título de mestre em Ciência e Tecnologia na área de concentração em Ciência Ambiental.

**DOURADOS/MS
FEVEREIRO/2012**

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central - UFGD

634.8
S586a Silva, Cinthia Aparecida de Andrade.
 Avaliação do potencial biotecnológico de *Lichtheimia*
ramosa em resíduos de frutos do cerrado via bioprocesso
em estado sólido / Cinthia Aparecida de Andrade Silva. –
Dourados, MS, 2012.
 76 f.

 Orientador: Prof. Dr. Gustavo Graciano Fonseca.
 Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia
Ambiental) – Universidade Federal da Grande Dourados.

 1. Frutos do cerrado. 2. Micro-organismo (*Lichtheimia*
ramosa). I. Título.

Termo de Aprovação

Após a apresentação, arguição e apreciação pela banca examinadora, foi emitido o parecer APROVADO, para a dissertação intitulada: **Avaliação do potencial biotecnológico de *Lichtheimia ramosa* em resíduos de frutos do cerrado via bioprocesso em estado sólido**, de autoria de Cinthia Aparecida de Andrade Silva, apresentada ao Programa de Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental da Universidade Federal da Grande Dourados.

Prof. Dr. Gustavo Graciano Fonseca (Orientador-UFGD)
Presidente da Banca Examinadora

Profa. Dra. Margareth Batistote
Membro Examinador (UEMS)

Prof. Dr. Marcelo Fossa da Paz
Membro Examinador (UFGD)

Dourados/MS, 29 de fevereiro de 2012.

Aos meus pais.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço,

Ao Prof. Dr. Gustavo Graciano Fonseca, pela orientação, apoio e aprendizado.

Ao Prof. Dr. Rodrigo Simões Ribeiro Leite, pela colaboração direta na realização desse trabalho.

Aos alunos de Iniciação Científica, Maria Priscila e Igor.

Aos técnicos Priscilla, Klerisson e Sueli pelo apoio nos laboratórios.

A todos os colegas de Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental pelo convívio e amizade, em especial à Mariana, Keurison, Irlon, Marcelo e Perla, pelo companheirismo.

A todos do grupo de pesquisa coordenado pelo Prof. Dr. Gustavo Graciano Fonseca.

Aos meus pais, Idalina e Francisco, minha irmã Évelin e meu namorado Anderson, pelo apoio incondicional em todos os momentos.

À CAPES, pela bolsa concedida.

Enfim, a todos que mesmo não citados, contribuíram direta e indiretamente para a realização deste trabalho.

LISTA DE ABREVIATURAS

A	amêndoa
AA	ácido ascórbico
Abr	abril
AGI	ácidos graxos insaturados
AGS	ácidos graxos saturados
Ago	agosto
BES	bioprocessos em estado sólido
C	casca
C6	ácido capríco
C8	ácido caprílico
C10	ácido cáprico
C12	ácido laurico
C14	ácido mirístico
C16	ácido palmítico
C16:1(n7)	ácido palmitoléico
C17	ácido margárico
C17:1(n8)	ácido margaroléico
C18	ácido esteárico
C18:1(n9)	ácido oléico
C18:1(n7)	ácido vascênico
C18:1(n6)	<i>cis6. cis9</i> - ácido octadecadienóico
C18:2(n6)	ácido linoléico
C18:3(n6)	ácido linolênico
C20	ácido araquídico
C20:1(n11)	ácido gadoléico
C20:1(n7)	<i>cis11</i> - ácido eicosenóico
C22	ácido behênico
C22:1(n9)	ácido erúico
C24	ácido lignocérico
CIN	cinzas
CHO	carboidratos
CMC	carboximetil celulose

CMCase	carboximetil celulase
Dez.....	dezembro
DNS.....	ácido dinitro-salicílico
DPPH	2,2-difenil-1-picril hidrazil
EP	enriquecimento proteico
Eq.....	equação
Fev.	fevereiro
FIB.....	fibras
Fig.	figura
GAE.....	ácido gálico
H ₂ O _p	água peptonada
Jan.	janeiro
Jun.	junho
Jul.....	julho
LIP	lipídios
Mar.	março
MTCC.....	<i>Microbial Type Culture Collection and Gene Bank</i>
n.	número
Nov.....	novembro
Out..	outubro
nd.	não determinado
p.	página
P.....	polpa
pH.....	potencial hidrogeniônico
PRO	proteínas
PCA.....	ágar padrão para contagem
PDA.....	ágar batata dextrose
pNP	<i>para</i> -nitrofenol fosfato
pNPP	<i>para</i> -nitrofenil palmitato
S.....	semente
Set.....	setembro
U.....	unidades
UFC.....	unidades formadoras de colônias
v.	volume

LISTA DE QUADROS

Quadro 2.1. Composição proximal de frutos do cerrado, resultados expressos em % (g/100g).....	28
Quadro 2.2. Compostos bioativos presentes nos frutos do cerrado.	30
Quadro 2.3. Composição de ácidos graxos de frutos do cerrado.....	32

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1. Principais frutos do cerrado, incluindo nome comum e científico e frutificação.....	19
Tabela 2.2. Conteúdo de óleos graxos insaturados e saturados em frutos do cerrado	33
Tabela 3.1. Atividade enzimática de β -glicosidase, xilanase, CMCase e amilase produzidas em substratos com resíduos de bocaiúva, guavira e pequi com <i>L. ramosa</i> cultivada nas temperaturas de 25°C, 30°C e 35°C.....	47
Tabela 4.1. Enriquecimento proteico após cultivos.....	60
Tabela 4.2. Variação da composição proximal do meio contendo resíduos de bocaiuva pela ação do micro-organismo <i>L. ramosa</i>	61
Tabela 4.3. Variação da composição proximal do meio contendo resíduos de seriguela pela ação do micro-organismo <i>L. ramosa</i>	62
Tabela 4.4. Variação da composição proximal do meio contendo resíduos de araticum pela ação do micro-organismo <i>L. ramosa</i>	63
Tabela 4.5. Variação da composição proximal do meio contendo resíduos de guavira pela ação do micro-organismo <i>L. ramosa</i>	64
Tabela 4.6. Variação da composição proximal do meio contendo resíduos de pequi pela ação do micro-organismo <i>L. ramosa</i>	65

LISTA DE FIGURAS

- Figura 3.1.** Cinética de crescimento de *Lichtheimia ramosa*. A. Bocaiuva; B. Guavira; C. Pequi. ♦. 25°C; ○ 30°C; ▲. 35 °C.....46
- Figura 4.1.** Cinética de crescimento do micro-organismo *Lichtheimia ramosa* em função nos substratos bocaiuva (♦), seriguela (X), araticum (•), guavira (+) e pequi (■) e do tempo de cultivo.....66
- Figura 4.2.** Atividade lipásica do produto fermentado nos diferentes substratos em função do tempo de cultivo. Bocaiúva (■), seriguela (x), araticum (◇), guavira (□) e pequi (▲).....67

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 4.1. Conteúdo de carboidratos	57
Equação 4.2. Enriquecimento protéico	58

Resumo

Os bioprocessos em estado sólido (BES) são processos empregados na obtenção de enzimas e no incremento do teor proteico em resíduos sólidos através da utilização de micro-organismos. O trabalho foi dividido em três artigos, sendo que no primeiro é feita uma revisão sobre o potencial tecnológico e biotecnológico dos frutos do cerrado, estes frutos apresentam vantagens nutricionais, produção de compostos bioativos e alguns são ricos em ácidos graxos. No segundo artigo foi avaliado o desenvolvimento do micro-organismo *Lichtheimia ramosa* em substratos compostos de resíduos de frutos do cerrado, bocaiuva, guavira e pequi e sua capacidade de produção de enzimas amilase, xilanase, CMCase e β -glicosidase via BES, nas temperaturas de 25°C, 30°C e 35°C durante 168 horas. *L. ramosa* apresentou boa adaptação a todos os substratos e temperaturas analisados, porém atingiu melhor crescimento a 35°C. A atividade enzimática mais expressiva ocorreu para xilanase com 144h de cultivo, nos substratos compostos de resíduos de bocaiuva (35°C) e guavira (30°C) com 1,802 U/mL e 1,094 U/mL, respectivamente. E por fim, no terceiro artigo foi analisado o enriquecimento proteico de resíduos de bocaiuva, pequi, guavira, araticum e seriguela e a produção de lipases por meio de BES com o mesmo micro-organismo, à 30°C por 40 dias. O enriquecimento proteico foi obtido para todos os meios, apresentando níveis superiores em resíduos de seriguela (391,66%), seguido de pequi (160,04%), araticum (143,31%), guavira (102,42%) e bocaiuva (67,88%). Para as análises enzimáticas obteve-se com o substrato composto de resíduos de guavira o melhor resultado (1,12 U/g), seguido de araticum (0,58 U/g), seriguela (0,41 U/g) e bocaiuva (0,21 U/g). Observou-se nos experimentos realizados o potencial para produção de enzimas e enriquecimento proteico por *L. ramosa* em resíduos de frutos do cerrado via BES.

Palavras-chave: Bioprocesso em estado sólido; Enriquecimento proteico; Enzimas; Frutos do cerrado.

Abstract

The solid state bioprocess (SSB) are process used in obtaining the enzyme and increasing the protein content in solid waste by using micro-organisms. The work was divided into three articles. The work was divided into three articles, the first being that a review is made on the technological and biotechnological potential of Cerrado fruits, these fruits have nutritional advantages, production of bioactive compounds and some are rich in fatty acids. In the second article evaluated the development of micro-organism *Lichtheimia ramosa* in substrates composed of residues of fruits of the cerrado, bocaiuva, guavira and pequi and its ability to produce amylase, xylanase, CMCase and β -glucosidase via SSB, at temperatures 25°C, 30°C and 35°C for 168 hours. *L. ramosa* showed good adaptation to the substrate and all temperatures tested, but improved growth rate reached 35°C. The enzymatic activity was more significant for xylanase with 144h of culture, the substrates composed of residues of bocaiuva (35°C) and guavira (30°C) at 1,802 U/mL and 1,094 U/mL, respectively. And finally, the third article, we investigated the enrichment of protein residues in the bocaiuva, pequi, guavira, araticum and seriguela, and lipase production by SSB with the same micro-organism, at 30°C for 40 days. The enrichment of protein was obtained for all modes, with higher levels in waste seriguela (391,66%), followed by pequi (160,04%), araticum (143,31%), guavira (102,42%) and bocaiuva (67,88%). For enzymatic analyzes were obtained with substrates of waste guavira the best result (1,12 U/g), followed by araticum (0,58 U/g), seriguela (0,41 U/g) and bocaiúva (0,21 U/g). It was observed in the experiments the potential for enzyme production and for protein enrichment *L. ramosa* residues in fruits of the cerrado via SSB.

Keywords: Solid state bioprocess; Protein enrichment; Enzymes, Fruits of the cerrado.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	14
1.2 OBJETIVOS	14
1.3 REFERÊNCIAS.....	15
2 POTENCIAL TECNOLÓGICO E BIOTECNOLÓGICO DOS FRUTOS DO CERRADO	16
2.1 INTRODUÇÃO	16
2.2 CERRADO	17
2.3 FRUTOS DO CERRADO	18
2.3.1 Amburana (<i>Amburana cearensis</i>).....	21
2.3.2 Araçá (<i>Psidium firmum</i>)	21
2.3.3 Araticum (<i>Annona crassiflora</i>)	21
2.3.4 Banha de Galinha (<i>Swartzia langsdorfii</i>)	21
2.3.5 Baru (<i>Dypterix alata</i>).....	21
2.3.6 Bocaiúva (<i>Acrocomia aculeata</i>)	22
2.3.7 Buriti (<i>Mauritia flexuosa</i>).....	22
2.3.8 Cagaita (<i>Eugenia dysenterica</i>)	22
2.3.9 Caju-do-Cerrado (<i>Anacardium sp.</i>)	23
2.3.10 Chichá (<i>Sterculia striata</i>)	23
2.3.11 Guávira (<i>Campomanesia pubescens</i>)	23
2.3.12 Ingá-do-Cerrado (<i>Inga alba</i>)	23
2.3.13 Jatobá (<i>Hymenaea stigonocarpa</i>)	24
2.3.14 Lobeira (<i>Solanum lycocarpum</i>).....	24
2.3.15 Mangaba (<i>Hancornia speciosa</i>).....	24
2.3.16. Murici (<i>Byrsonima verbascifolia</i>).....	24
2.3.17 Pequi (<i>Caryocar brasiliense</i>)	24
2.3.18 Pitomba (<i>Talisia esculenta</i>)	25

2.4 CARACTERÍSTICAS E PROPRIEDADES DOS FRUTOS CERRADOS	25
2.4.1 Composição Proximal.....	25
2.4.2 Compostos Bioativos.....	26
2.4.3 Composição em Ácidos Graxos	31
2.5 CONCLUSÃO.....	33
2.6 REFERÊNCIAS.....	33
3 AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE AMILASE, β -GLICOSIDASE, XILANASE E CARBOXIMETILCELULASE VIA BIOPROCESSO EM ESTADO SÓLIDO EM RESÍDUOS DE FRUTOS DO CERRADO COM <i>Lichtheimia ramosa</i>	40
3.1 INTRODUÇÃO	41
3.2 MATERIAL E MÉTODOS	42
3.2.1 Micro-organismo.....	42
3.2.2 Substratos	42
3.2.3 Inóculo.....	43
3.2.4 Bioprocesso em Estado Sólido (BES)	43
3.2.5 Determinações Microbiológicas de <i>Lichtheimia ramosa</i>	44
3.2.6 Extração Enzimática Aquosa.....	44
3.2.7 Atividade de β -glicosidase.....	44
3.2.8 Atividade de xilanase, CMCase e Amilase	44
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	45
3.3.1 Determinações Microbiológicas de <i>Lichtheimia ramosa</i>	45
3.3.2 Análises Enzimáticas.....	46
3.4 CONCLUSÃO.....	49
3.5 REFERÊNCIAS.....	49
4 ENRIQUECIMENTO PROTEICO E OBTENÇÃO DE LIPASE PELO MICRO-ORGANISMO <i>Lichtheimia ramosa</i> VIA BIOPROCESSO EM ESTADO SÓLIDO UTILIZANDO RESÍDUOS DE FRUTOS DO CERRADO	52
4.1 INTRODUÇÃO	53
4.2 MATERIAL E MÉTODOS	55
4.2.1 Micro-organismo.....	55
4.2.2 Substratos	55
4.2.3 Biorreatores.....	56
4.2.4 Pré-inóculo “spawn”	56
4.2.5 Inoculação e Cultivo	56

4.2.6 Composição Proximal.....	57
4.2.7 Determinações Microbiológicas de <i>Lichtheimia ramosa</i>	57
4.2.8 Controle Microbiológico	58
4.2.9 Enriquecimento Proteico	58
4.2.10 Extração Enzimática Aquosa.....	58
4.2.11 Determinação de Atividade Lipásica	59
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	59
4.3.1 Composição Proximal.....	59
4.3.2 Determinações Microbiológicas de <i>Lichtheimia ramosa</i>	65
4.3.3 Análises Enzimáticas.....	66
4.4 CONCLUSÃO.....	68
4.5 REFERÊNCIAS.....	69
5 CONCLUSÃO GERAL.....	75
ANEXOS	76

1 INTRODUÇÃO GERAL

Os frutos do cerrado, muito utilizados pelas comunidades locais para consumo na forma *in natura*, produção de doces, geléias e sucos, são ainda explorados de maneira extrativista (RIGUEIRA, 2003). Há uma tendência no aumento de consumo desses frutos que se caracterizam pelo valor nutricional, presença de fibras, vitaminas, minerais e antioxidantes (VIEIRA, 2006).

O interesse em processar e utilizar os frutos do cerrado que atinge diversos segmentos da sociedade (GUIMARÃES et al., 2008), tende a aumentar a liberação de resíduos. Esses resíduos possuem alta concentração de matéria orgânica, que favorece o crescimento de espécies fúngicas por meio de BES (CORREIA et al., 2007).

BES caracteriza-se por um bioprocesso em que micro-organismos crescem em materiais sólidos sem a presença de água livre (KRISHNA, 2005). Esse bioprocesso é utilizado para produção de enzimas e na bioconversão de substratos visando o enriquecimento proteico.

Espécies fúngicas são comumente utilizadas por BES (CASTILHO et al., 2009). O micro-organismo *Lichtheimia ramosa* por sua rápida colonização torna-se um micro-organismo com potencial para aplicação em BES para obtenção de produtos de interesse biotecnológico.

1.2 OBJETIVOS

- Estudar o desenvolvimento do micro-organismo *Lichtheimia ramosa* em substratos compostos de resíduos de frutos do cerrado via bioprocesso em estado sólido.
- Avaliar a capacidade de *Lichtheimia ramosa* para a produção das enzimas amilase, xilanase, CMCCase e β -glicosidase em substratos compostos de resíduos de bocaiuva, guavira e pequi via bioprocesso em estado sólido.
- Analisar o potencial de *Lichtheimia ramosa* para o enriquecimento proteico e a produção de enzimas lipásicas em resíduos dos frutos bocaiuva, pequi, guavira, araticum e seriguela por meio de bioprocesso em estado sólido.

1.3 REFERÊNCIAS¹

CASTILHO, L. R.; MITCHELL, D. A.; FREIRE, D. M. G. Production of solid-state fermentation. **Bioresource Technology**, v. 100, p. 5996-6009, 2009.

GUIMARÃES, R. C. A.; VIANNA, A. C.; MACHADO, A. A.; FAVARO, S. P. Caracterização química da farinha desengordurada e obtenção do concentrado protéico de amêndoas de baru (*Dipterix alada* Vog.). In: **IX Simpósio Nacional do Cerrado e II Simpósio Internacional de Savanas Tropicais**, p. 1-7, 2008.

KRISHNA, C. Solid-State Fermentation Systems - An Overview. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 25, n.1, p. 1-30, 2005.

RIGUEIRA, J. A. **Pequi: Cultivo, Caracterização físico-química e Processamento**. 2003, p. 50 f. Monografia. Universidade de Brasília – Centro de Excelência em Turismo. Brasília/ DF, 2003.

VIEIRA, R. F.; COSTA, T. S. A.; DA-SILVA, D. B.; FERREIRA, F. R.; SANO, S. M. **Frutas nativas da região Centro-Oeste**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 320 p., 2006.

¹ Estas e as demais referências bibliográficas encontram-se de acordo com as Normas do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental da UFGD.

2 POTENCIAL TECNOLÓGICO E BIOTECNOLÓGICO DOS FRUTOS DO CERRADO

RESUMO: O Cerrado é o segundo maior bioma brasileiro e exibe grande biodiversidade. Os frutos de suas árvores nativas representam uma importante opção de renda para a população local. Estes frutos apresentam características peculiares, sendo reconhecidos por seus aspectos terapêuticos e nutricionais. Contudo pouco ainda se sabe sob os potenciais tecnológicos e biotecnológicos dos mesmos e a pouca informação existente ainda não foi compilada. Sabe-se que muitos destes frutos contêm diversos compostos bioativos de interesse industrial, como constituintes fenólicos e carotenóides. Outro aspecto dos frutos é o elevado conteúdo de ácidos graxos de algumas espécies. Pequi, bocaiuva, jatobá, baru, amburama e buriti estão entre as descritas como ricas em ácidos graxos, insaturados em sua maioria. Com este trabalho buscou-se sintetizar tais informações sobre 18 espécies de frutos do cerrado apontadas como de interesse para exploração sustentada a médio e curto prazos, sob os aspectos tecnológicos e biotecnológicos, visando o desenvolvimento de novos produtos, à partir matérias-primas, marginalmente estudadas.

Palavras-chave: Frutos do Cerrado; Revisão

2.1 INTRODUÇÃO

O Bioma Cerrado é um dos maiores e mais importantes da América do Sul e do Brasil, estando presente em diversos estados brasileiros. Cerca de 7% do Cerrado possui proteção na forma de reservas ecológico-biológicas, parques nacionais e áreas indígenas, pequenos e/ou isolados, com limitado valor de conservação (MARTINS, 2006).

A biodiversidade do Cerrado é elevada (KLINK; MACHADO, 2005). O número de plantas vasculares é superior ao encontrado na maioria das regiões do mundo: plantas herbáceas, arbustivas, arbóreas e cipós somam mais de 7.000 espécies (MENDONÇA et al., 1998).

Muitas espécies nativas do Cerrado possuem características peculiares, formas variadas, cores atrativas e sabores característicos, constituindo potenciais fontes de exploração econômica. As frutas são nutritivas e empregadas na dieta popular como complemento alimentar, sendo consumidas sob diversas formas (ALMEIDA et al., 1998; MARTINS, 2006).

2.2 CERRADO

O bioma Cerrado está localizado na região central do Brasil. Abrange os Estados de Goiás, Tocantins, Distrito Federal, parte dos Estados da Bahia, Ceará, Maranhão, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Piauí, Rondônia e São Paulo além de ocorrer em áreas disjuntas ao norte nos Estados do Amapá, Amazonas, Pará e Roraima (RIBEIRO; WALTER, 1998).

O Cerrado é formado por diferentes fisionomias vegetais, desde as formações de savana a formas florestais, como mata de galeria. O bioma Cerrado apresenta uma alta riqueza de espécies e alto endemismo de plantas e vertebrados e está sob um rápido processo de conversão para plantios de soja e de milho, pecuária extensiva e uma expansão iminente de plantações de cana-de-açúcar. Atualmente, cerca de 39% de sua área total está em condições de terra sem cobertura vegetal (CARVALHO et al., 2009). Devido ao seu elevado grau de endemismo e forte pressão humana, o Cerrado é considerado um dos *hotspots* (área prioritária de preservação) para a conservação da biodiversidade no mundo (MYERS et al., 2000). De acordo com Silva et al. (2006), insuficientes esforços são feitos para sua conservação. Apenas 2,2% do Cerrado é protegido e no ritmo atual de perda, o ecossistema pode ser extinto em 2030 (MARRIS, 2005).

Eiten (1972) e Ratter et al. (1997) publicaram detalhes sobre o Cerrado Brasileiro, reportando que este é dividido em 3 tipos segundo sua estrutura: Cerradão, Cerrado e Campos. O Cerradão apresenta dossel quase fechado, com árvores entre 12 e 15 m de altura, os Campos têm cobertura de dossel de até 5%, enquanto o Cerrado propriamente dito possui 20 a 30% de cobertura arbórea, sendo o tipo mais extenso no Brasil.

A Região do Cerrado apresenta grande diversificação faunística e florística em suas diferentes fisionomias vegetais e as fruteiras nativas ocupam lugar de destaque nesse bioma (AVIDOS; FERREIRA, 2000).

2.3 FRUTOS DO CERRADO

Os frutos do cerrado são uma importante opção de renda e alimentos para as populações que vivem nessa região. As espécies frutíferas apresentam um grande potencial de utilização agrícola, sendo tradicionalmente utilizadas pela população local. Os frutos são extraídos de maneira extrativista e, em geral, consumidos *in natura* ou na forma de sucos, licores, sorvetes, geléias e doces diversos (SILVA et al., 2008).

As informações sobre os frutos do cerrado até 1994 estavam publicadas de maneira dispersa (VIEIRA et al., 2006). Nesse mesmo ano informações botânicas, agronômicas e nutricionais sobre 35 espécies dos frutos mais importantes para esta região foram reunidas em um livro (SILVA et al., 1994), posteriormente ampliado e reeditado com 57 espécies (SILVA et al., 2001a). A Tabela 2.1 apresenta os principais frutos presentes no Cerrado Brasileiro.

Tabela 2.1. Principais frutos do cerrado, incluindo nome comum e científico e frutificação.

Nome comum	Nome científico	Frutificação
Amburana ^{1,6}	<i>Amburana cearensis</i>	Ago. a Set.
Ananás/Abacaxi-do-Cerrado ^{1,5}	<i>Ananas ananassoides</i>	Ago. a Nov.
Araçá ^{1,5}	<i>Psidium firmum</i>	Out. a Dez.
Araticum ^{1,4}	<i>Annona crassiflora</i>	Set. a Nov.
Babaçu ²	<i>Orbygnia cf. phalerata</i>	Out. a Jan.
Bacupari ¹	<i>Salacia crassiflora</i>	Set. a Dez.
Banha-de-Galinha ^{2,6}	<i>Swartzia langsdorfii</i>	Ago. a Out.
Baru ^{1,4}	<i>Dypterix alata</i>	Jan. a Mar.
Buriti ^{1,4}	<i>Mauritia flexuosa</i>	Dez. a Jun.
Cagaita ^{1,4}	<i>Eugenia dysenterica</i>	Set. a Out.
Caju-de-Árvore-do-Cerrado ²	<i>Anacardium othonianum</i>	Set. a Out.
Caju-Rasteiro ²	<i>Anacardium pumilum</i>	Set. a Out.
Cajuzinho-do-Cerrado ^{1,5}	<i>Anacardium humile</i>	Set. a Nov.
Chichá ^{1,6}	<i>Sterculia striata</i>	Ago. a Set.
Coquinho-do-Cerrado ¹	<i>Syagrus flexuosa</i>	Jan. a Abr.
Croadinha ²	<i>Mouriri elliptica</i>	Set. a Out.
Curriola ²	<i>Pouteria ramiflora</i>	Set. a Mar.
Fruto-do-Tatu ²	<i>Crhysophyllum soboliferum</i>	Nov. a Jan.
Gabiropa/Guavira ^{1,6}	<i>Campomanesia pubescens</i>	Set. a Nov.
Gravatá ²	<i>Bromelia balansae</i>	Out. a Mar.
Guapeva ¹	<i>Pouteria cf. gardineriana</i>	Nov. a Fev.
Guariropa ²	<i>Syagrus oleraceae</i>	Set. a Jan.
Ingá-do-Cerrado ^{1,6}	<i>Inga alba</i>	Jul. a Set.
Jaracatiá ²	<i>Jacaratia hiptaphylla</i>	Jan. a Mar.
Jatobá-do-Cerrado ^{1,5}	<i>Hymenaea stigonocarpa</i>	Abr. a Jul.
Jatobá-da-Mata ²	<i>Hymenaea stilbocarpa</i>	Set. a Nov.
Jerivá ²	<i>Syagrus romanzoffiana</i>	Abr. a Nov.
Lobeira ^{1,6}	<i>Solanum lycocarpum</i>	Mar. a Jul.
Macaúba/Bocaiuva ^{1,6}	<i>Acrocomia aculeata</i>	Mar. a Jun.
Mama-Cadela ¹	<i>Brosimum gaudichaudii</i>	Ago. a Set.
Mangaba ^{1,3,4}	<i>Hancornia speciosa</i>	Jul. a Out.
Maracujá-de-Cobra ²	<i>Passiflora coccinea</i>	Set. a Nov.

Tabela 2.1. Principais frutos do cerrado, incluindo nome comum e científico e frutificação (continuação)

Nome comum	Nome científico	Frutificação
Maracujá-do-Cerrado ^{2,4}	<i>Passiflora cincinnata</i>	Out. a Mar.
Maracujá-Doce ²	<i>Passiflora alata</i>	Fev. a Abr.
Maracujá-Nativo ²	<i>Passiflora eichleriana</i>	Out. a Mar.
Maracujá-Roxo ²	<i>Passiflora edulis</i>	Fev. a Ago.
Marmelada-de-Bezerro ¹	<i>Alibertia edulis</i>	Set. a Nov.
Marmelada-de-Cachorro ²	<i>Alibertia sessillis</i>	Out. a Dez.
Marmelada-de-Pinto ²	<i>Alibertia elliptica</i>	Out. a Dez.
Melancia-do-Cerrado ²	<i>Melancium campestre</i>	Mai. a Jul.
Murici ^{1,5}	<i>Byrsonima verbascifolia</i>	Nov. a Fev.
Palmito-da-Mata ²	<i>Euterpe edulis</i>	Abr. a Out.
Pequi ^{1,4}	<i>Caryocar brasiliense</i>	Nov. a Fev.
Pequi-Anão ²	<i>Caryocar brasiliense subsp. Intermedium</i>	Fev. a Abr.
Pêra-do-Cerrado ^{1,5}	<i>Eugenia klotzchiana</i>	Out. a Dez.
Perinha ²	<i>Eugenia lutescens</i>	Set. a Nov.
Pimenta-de-Macaco ¹	<i>Xylopiia aromatica</i>	Ago. a Nov.
Pitanga-Vermelha ²	<i>Eugenia calycina</i>	Set. a Dez.
Pitomba-do-Cerrado ^{2,6}	<i>Talisia esculenta</i>	Out. a Jan.
Puçá ²	<i>Mouriri pusa</i>	Set. a Out.
Saputá ²	<i>Salacia elliptica</i>	Out. a Dez.
Tucum-do-Cerrado ²	<i>Bactris spp.</i>	Jan. a Mar.
Uva-Nativa-do-Cerrado ²	<i>Vitis spp.</i>	Jan. a Mar.

FONTE: ¹ALMEIDA et al., 1998; ²OLIVEIRA; ROCHA, 2008. ³Espécie encontrada também na Caatinga. ⁴Frutos de elevado potencial de exploração sustentada a curto prazo (VIEIRA et al., 2006). ⁵Frutos com potencial de exploração sustentada a médio prazo (VIEIRA et al., 2006). ⁶Também reportadas na literatura como espécies com potencial de exploração sustentada.

O abacaxi-do-cerrado e o maracujá-do-cerrado apesar de reportados como espécies com potencial de exploração a médio e curto prazo, respectivamente (VIEIRA et al., 2006), são pouco descritas na literatura. As demais espécies destacadas na Tabela 2.1 são brevemente descritas a seguir.

2.3.1 Amburana (*Amburana cearensis*)

Pertence à Família Leguminosae. Além de amburana recebe nomes como cerejeira-rajada, cumaré e cumaru (ALMEIDA et al., 1998). Essa planta é conhecida pela medicina popular por possuir óleos voláteis nas cascas e sementes (CARVALHO, 1994).

2.3.2 Araçá (*Psidium firmum*)

Pertence à Família Myrtaceae (ALMEIDA et al., 1998). É também conhecido como goiabinha. É uma planta melífera com fruto comestível e folhas utilizadas na medicina popular sob a forma de chá (BRANDÃO; FERREIRA, 1991). O araçá não está presente apenas no bioma Cerrado, mas também Mata Atlântica e na Amazônia. É um fruto ácido e sua polpa é utilizada no preparo de sucos, sorvetes e geléias (GENOVESE et al., 2008).

2.3.3 Araticum (*Annona crassiflora*)

Pertence à Família Annonaceae. Os frutos do araticum são também conhecidos como marolo. Os frutos são utilizados na alimentação e são muito apreciados por sua polpa doce, amarelada e de aroma bastante forte. As sementes possuem ação contra afecções parasitárias do couro cabeludo (ROESLER et al., 2007).

2.3.4 Banha de Galinha (*Swartzia langsdorffii*)

Pertence à Família Leguminosae. A espécie também é conhecida como banana de papagaio e pacová-de-macaco. A árvore de banha de galinha é pequena e notável pelos frutos muito grandes (semelhante à manga comum) com arilos polposos, cor de laranja. Para o homem, seu cheiro não é muito apreciado (PULIDO et al., 2000; ROESLER et al. 2007).

2.3.5 Baru (*Dypterix alata*)

Pertence à Família Leguminosae. O baru ocorre na região de planalto central é uma excelente fonte de óleo e proteína. Este fruto possui diferentes denominações, como cumbaru, baruju, coco-feijão, emburena-brava, pau cumaru, cumbaru, cumarurana ou fruta-de-macaco. Sua amêndoa pode ser

consumida integralmente como aperitivo ou pode ser fracionada em óleo ou farelo, sendo uma fonte bastante rica em proteínas (GUIMARÃES et al., 2008).

2.3.6 Bocaiúva (*Acrocomia aculeata*)

Pertence à Família Arecaceae. É também conhecida como macaúba. Esta palmeira é encontrada em quase todo território brasileiro, estando entre as principais espécies encontradas no Pantanal Sul Mato-grossense e no Cerrado Brasileiro (KOPPER et al., 2009). Seus frutos podem ser consumidos tanto na forma *in natura* quanto na forma processada de farinha. A bocaiúva possui elevada importância do ponto de vista ecológico, pois é utilizada como recurso alimentar para diferentes espécies da fauna local e na colonização de áreas degradadas devido à facilidade em se adaptarem a diferentes climas e solo (LORENZI, 2006).

2.3.7 Buriti (*Mauritia flexuosa*)

Pertence à Família Arecaceae. O buriti é uma palmeira nativa do Brasil, mas que também apresenta crescimento na Venezuela. São plantas que crescem em áreas de rios, florestas úmidas e cerrados por serem adaptáveis a períodos de secas ocasionais. O buriti vem sendo amplamente estudado devido ao óleo de sua polpa, com potencial para a produção de biodiesel. O óleo do buriti apresenta alta concentração de ácidos graxos e alta qualidade nutricional (ALBUQUERQUE et al., 2005).

2.3.8 Cagaita (*Eugenia dysenterica*)

Pertence à Família Myrtaceae. O uso alimentar da cagaita é bastante difundido no Cerrado, sendo consumido *in natura*, devendo-se ter apenas algumas precauções em relação à quantidade ingerida, uma vez que pode tornar-se laxante, principalmente quando fermentados ao sol (ROESLER et al., 2007; LIMA et al., 2010). Além do valor pela utilização de seus frutos, a espécie presta-se como planta ornamental e melífera e à extração de cortiça, podendo ser usada em pequenas construções civis ou na fabricação de carvão. Sua casca pode ainda ser utilizada em curtumes (TELLES et al., 2001).

2.3.9 Caju-do-Cerrado (*Anacardium sp.*)

Pertence a Família Anacardiaceae. Para essa frutífera há três espécies afins, *Anacardium othonianum*, *Anacardium pumilum* e *Anacardium humilde* que se diferem pelo tipo de folhas. É também denominada cajuí. O uso alimentar do cajuí é muito difundido pela população do Cerrado. São consumidas na forma *in natura* e utilizadas no preparo de sucos, doces, geléias e sorvetes. Com a fermentação da polpa obtém-se uma espécie de vinho ou aguardente. É reconhecida por sua utilização medicinal (ALMEIDA et al., 1998).

2.3.10 Chichá (*Sterculia striata*)

Pertence a Família Malvaceae. É também popularmente conhecida como amendoim-da-mata, arachachá, castanha-de-macaco e chichá-do-cerrado (ALMEIDA et al., 1998). Essa planta fornece madeira branca, macia e leve. A casca contém tanino e as sementes são comestíveis, cruas, cozidas ou torradas (HERINGER, 1947; LORENZI, 1992).

2.3.11 Guavira (*Campomanesia pubescens*)

Pertence à Família Myrtaceae. É abundante na Região do Cerrado. Recebe ainda o nome popular de guabiroba. A planta apresenta flores brancas, solitárias, axilares ou terminais. Os frutos são comestíveis e consumidos por várias espécies de pássaros e mamíferos (PELLOSO et al., 2008). Os frutos de guavira coletados em diferentes estágios de amadurecimento apresentam potencial para serem utilizados *in natura* na indústria de alimentos e como flavorizantes na indústria de bebidas, devido aos seus atributos de qualidade como, elevada acidez, ácido ascórbico, minerais, fibras alimentares e hidrocarbonetos monoterpênicos, presentes em maior quantidade no óleo volátil dos frutos, e que lhes conferem o aroma cítrico (VALLILO et al., 2006).

2.3.12 Ingá-do-Cerrado (*Inga alba*)

Pertence à Família Leguminosae. É recorrente da Região do Cerrado, porém está também presente na Região Amazônica (ALMEIDA et al., 1998). A madeira é utilizada para carpintaria. O fruto é comestível e de consistência semelhante ao algodão. A casca é medicinal e utilizada em forma de chá (CORRÊA, 1969).

2.3.13 Jatobá (*Hymenaea stigonocarpa*)

O termo jatobá refere-se às espécies arbóreas do Gênero *Hymenaea*, da Família Leguminosae, Subfamília Caesalpinioideae. O jatobazeiro, conhecido também por jataí, jutaí e jatobá-do-cerrado é uma leguminosa típica do Cerrado Brasileiro (SILVA et al., 2001b).

2.3.14 Lobeira (*Solanum lycocarpum*)

Pertence à Família Solanaceae. É popularmente conhecida como berinjela, fruta-do-lobo ou lobeira. Seus frutos são utilizados na alimentação e reputados como medicinais, sua polpa possui cheiro muito ativo e penetrante e contém alcalóides de natureza pouco conhecida (SILVA et al., 1994).

2.3.15 Mangaba (*Hancornia speciosa*)

Pertence à Família Apocynaceae. É nativa do Brasil, vegetando espontaneamente em todo país, com exceção dos planaltos meridionais e dos pampas. Esta frutífera vem apresentando um grande potencial de mercado no segmento de frutas tropicais, com possibilidades de aproveitamento tanto para o mercado consumidor interno, quanto para o mercado exportador. Seus frutos têm boa aceitação, podendo ser consumidos *in natura* ou processados na forma de polpas, sucos, sorvetes e doces (ARAÚJO et al., 2003).

2.3.16. Murici (*Byrsonima verbascifolia*)

Pertence à Família Malpighiaceae. É consumido principalmente *in natura*, ou sob a forma de sucos, geléias, sorvetes e licores (ALVES; FRANCO, 2003). O fruto quando maduro, apresenta-se amarelado, com um forte odor (REZENDE; FRAGA, 2003; ALVES; FRANCO, 2003). A casca é utilizada em tinturarias para a extração do corante preto e tingimento de tecidos (SILVA FILHO, 1992).

2.3.17 Pequi (*Caryocar brasiliense*)

Pertence à Família Caryocaraceae. É também conhecido popularmente como piqui, pequiá, amêndoa de espinho, grão de cavalo ou amêndoa do Brasil. É cultivado em todo o Cerrado Brasileiro. O fruto não é consumido *in natura*, mas depois de cozido (DA-SILVA et al., 2009). A polpa do pequi é

utilizada na elaboração de diferentes pratos, como: arroz, feijão e frango com pequi. A polpa contém uma boa quantidade de óleo comestível e é rica em vitamina A e proteínas, transformando-se em importante complemento alimentar. A amêndoa é utilizada como ingrediente de farofas, doces e paçocas, além de ser consumida salgada como petisco. O cultivo do pequi ainda não foi domesticado, sendo assim sua produção resulta de extrativismo (RIGUEIRA, 2003). É talvez o mais estudado dos frutos do cerrado.

2.3.18 Pitomba (*Talisia esculenta*)

Pertencente à Família Sapindaceae. É encontrada nas matas de terra firme ao redor de Manaus e nas capoeiras ralas do Amazonas, Pará, Maranhão, Ceará, Paraíba, Bahia, Minas Gerais, Rio de Janeiro, Pernambuco e na mata pluvial do Paraná (ALVES, 2009), mas também é adaptada aos Cerrados de Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Goiás.

2.4 CARACTERÍSTICAS E PROPRIEDADES DOS FRUTOS CERRADOS

2.4.1 Composição Proximal

A utilização da enorme biodiversidade encontrada no Cerrado pode ser uma alternativa econômica para o desenvolvimento sustentável da região. Muitas espécies nativas são utilizadas pela população regional e apresentam grandes perspectivas de serem utilizadas como matéria-prima no desenvolvimento de novos produtos (MARTINS, 2006). Desta forma é imprescindível o conhecimento destas matérias-primas para a prospecção de aplicações adequadas às mesmas. O Quadro 2.1 apresenta a composição proximal dos principais frutos do cerrado.

Os frutos com características sólidas, como baru, caju-do-cerrado e jatobá, de um modo geral, apresentam propriedades físicas e químicas excelentes para o consumo, pois são ricos em nutrientes, tais como proteínas e lipídios (Quadro 2.1). Suas características de alimentos seguros, sob o ponto de vista microbiológico são adequadas, devido sua baixa umidade e acidez (MARTINS, 2006).

O baru e o caju-do-cerrado possuem características oleaginosas e elevados valores energéticos, apresentando-se como fontes em potencial de gorduras e proteínas, importantes para a constituição e manutenção do organismo (MARTINS, 2006; SILVA et al., 2008). No que se refere ao baru, à polpa apresenta alto teor de carboidratos e fibras, já a semente destaca-se pelo teor de proteínas (TOGASHI; SGARBIERI, 1994).

As sementes de jatobá-do-cerrado são boas fontes de fibras, além disso, essas sementes apresentam em sua composição xiloglucanas e galactomananas, principais hemiceluloses da parede celular de plantas dicotiledôneas, utilizadas na fabricação de papéis (MATUDA; NETTO, 2005). As polpas de jatobá podem utilizadas para a fabricação de biscoitos do tipo *cookie*, isentos de açúcares, substituindo parcialmente a farinha de trigo, para agregar fibras ao produto (SILVA et al., 2001b).

Os frutos bocaiuva e chichá são considerados frutos ricos em macronutrientes, possuindo um alto valor energético. O teor de lipídios e carboidratos apresenta-se elevado nos dois frutos, sendo o chichá rico ainda em proteínas (SILVA et al., 2008).

2.4.2 Compostos Bioativos

Os frutos do cerrado, além de alto valor nutricional, apresentam também compostos bioativos com aplicação nos setores farmacêuticos, cosméticos e nutricionais (ROESLER et al., 2007). O Quadro 2.2 apresenta frutos do cerrado com compostos bioativos.

O pequi é um fruto rico em carotenóides (LIMA, 2006; DE-OLIVEIRA et al., 2006). Os carotenóides possuem funções biológicas importantes para o ser humano, como prevenção de alguns tipos de câncer e também de fotossensibilização em certas doenças de pele, além de propriedades contra envelhecimento (COLDITZ et al., 1985; RODRIGUEZ-AMAYA, 1985; OLSON, 1989), além disso, buriti e bocaiuva também são citados como frutos ricos em carotenóides (BARRETO et al. 2009; RAMOS et al., 2008).

Roesler et al. (2007) estudaram a performance do extrato etanólico de casca de pequi, semente de cagaita, semente e casca de araticum e casca de banha de galinha. Todos os extratos apresentaram alto conteúdo de compostos fenólicos, porém os melhores resultados foram com extrato etanólico de casca e semente de araticum (49,18 mg.mL⁻¹ e 30,97 mg.mL⁻¹, respectivamente), enquanto que o extrato etanólico de semente de cagaita apresentou 14,15 mg.mL⁻¹, demonstrando potencial antioxidante em todos esses frutos.

A identificação de novas fontes alimentares ricas em ácido ascórbico é de grande interesse para a saúde pública (GENOVESE et al., 2008). Frutos como a guavira são descritos como ricos nesses compostos, sendo importante para a aplicação em produtos farmacêuticos. A guavira destaca-se (234 mg/100g) pois supera frutos como a pitanga (42,9 mg/100g) (MÉLO et al., 2000), goiaba (89,78 mg/100g) (LIMA et al., 2002), além de laranja, limão e papaia que apresentam valores entre 50 e 100 mg/100g (DE-ANDRADE et al., 2002). Essa alta concentração de ácido ascórbico mostra que a polpa de guavira é rica em vitamina C (BREDA, 2011).

Portanto o potencial de emprego de cada fruto depende de suas propriedades específicas. Maiores estudos destas matérias-primas implicarão na escolha de frutos viáveis para aplicação biotecnológica.

Quadro 2.1. Composição proximal de frutos do cerrado, resultados expressos em % (g/100g).

Fruto	Porção Analisada	Umidade	Proteína bruta	Lipídios totais	Cinzas	Carboidratos	Fibras	Referência
Araçá	P	82,36±0,09	0,50±0,05	0,49±0,04	0,33±0,01	7,67±0,18	8,65±0,15	Silva et al., 2008
Araticum*	P	73,29±4,62	1,56±0,49	2,53±1,24	0,94±0,30	19,13±8,51	5,17±0,64	Hiane et al., 1992; Martins, 2006; Roesler et al., 2006; Silva et al., 2008; Roesler et al., 2007
Araticum*	C	54,28±6,24	2,54±0,69	0,95±0,35	0,77±0,28	14,54±4,50	nd	Roesler et al., 2006; Roesler et al., 2007
Araticum*	S	34,40±5,94	10,12±0,89	15,35±0,97	1,15±0,01	13,48±6,02	nd	Roesler et al., 2006; Roesler et al., 2007
Banha-de-Galinha	P	76,22	3,77±0,23	0,46±0,15	0,54±0,10	34,04±2,77	nd	Roesler et al., 2007
Banha-de-Galinha	C	82,95	7,72±0,23	0,29±0,02	0,62±0,29	17,91±3,31	nd	Roesler et al., 2007
Banha-de-Galinha	S	45,58	2,67±0,47	0,45±0,05	0,93±0,03	18,41±2,09	nd	Roesler et al., 2007
Baru	P	nd	5,59	3,40	1,70	58,46	29,50	Togashi; Sgarbieri, 1994
Baru	S	nd	29,59	4,27	2,85	8,27	19,04	Togashi; Sgarbieri, 1994
Bocaiuva/Macaúba*	P	48,15±10,54	2,05±0,52	13,52±3,60	1,68±0,12	28,13±5,86	10,93±2,91	Hiane et al., 1990; Hiane et al., 1992; Ramos et al., 2008; Silva et al., 2008
Buriti*	P	70,28±2,01	2,86±0,37	7,28±5,27	1,39±0,30	12,23±1,23	9,96±3,33	Hiane et al., 1992; IBGE, 1999
Cagaita	P + C	89,71	2,09±0,48	0,32±0,07	0,23±0,04	20,47±0,59	nd	Roesler et al., 2007
Cagaita	S	51,15	4,42±1,36	0,49±0,11	0,75±0,12	17,84±1,84	nd	Roesler et al., 2007
Cagaita*	P	93,17±2,58	0,91±0,12	0,32±0,17	0,26±0,03	4,25±1,65	1,04±0,08	Martins, 2006; Silva et al., 2008
Caju-do-Cerrado	P	87,57±0,11	1,18±0,02	0,63±0,05	0,33±0,01	6,97±0,16	4,26±0,16	Silva et al., 2008
Caju-do-Cerrado	S	6,35±0,21	22,01±0,65	26,40	2,44±0,09	8,90±0,12		Martins, 2006
Chichá	P	6,95±0,02	19,58±0,80	21,15±0,53	3,82±0,04	38,10±0,31	10,28 ± 0,34	Silva et al., 2008
Gabirola/Guavira*	P	85,06±3,19	1,05±0,78	0,56	0,37	12,24±2,35	1,17±0,52	IBGE, 1999; Silva et al., 2008;
Ingá	P	83,00	1,00	0,10	0,40	1,50±	1,20	IBGE, 1999
Jatobá-do-Cerrado*	S	9,84±0,48	7,44±2,28	3,55	2,43±0,90	35,40±1,40	85,31	Matuda; Netto, 2005; Martins, 2006
Lobeira	P	74,70	1,79±0,44	0,40±0,05	0,58±0,23	24,17±1,41	nd	Roesler et al., 2007
Lobeira	C	70,84	2,51±0,50	0,55±0,12	0,61±0,24	30,40±1,01	nd	Roesler et al., 2007

Quadro 2.1. Composição proximal de frutos do cerrado, resultados expressos em % (g/100g) (continuação).

Fruto	Porção Analisada	Umidade	Proteína bruta	Lipídios totais	Cinzas	Carboidratos	Fibras	Referência
Lobeira	S	36,19	13,41±0,50	3,73±0,26	1,80±1,01	nd	nd	Roesler et al., 2007
Mangaba*	P	83,85±2,04	1,05±0,22	2,27±0,15	0,56±0,03	9,31±1,44	2,16	Hiane et al., 1992; Silva et al., 2008
Murici*	P	79,70±3,46	0,83±0,09	2,17±0,86	0,67±0,10	13,3	5,96	IBGE, 1999; Silva et al., 2008; Guimarães; Silva, 2008
Pequi*	P	48,61±0,19	1,79±0,81	33,28±1,03	0,61±0,03	10,49±3,07	5,89±0,45	Hiane et al., 1992; Mariano et al., 2009
Pitomba*	P	86,83	0,78	0,15±0,06	0,11	10,66±2,62	2,20±0,28	IBGE, 1999; Silva et al., 2008

S: semente; P: polpa; C: casca; nd: não determinado; *Dados calculados pelas médias dos resultados obtidos pelos autores.

Quadro 2.2. Compostos bioativos presentes nos frutos do cerrado.

Fruto	Porção Analisada	Ácido Ascórbico (mg AA/100 g)	Fenóis totais (g GAE/kg)	Carotenóides totais ($\mu\text{mol Trolox eq/g}^a$ ou $\mu\text{g/g}^b$)	$^c\text{DPPH}^d/\text{TEAC}$ ($\mu\text{mol/L Trolox/g}^e$ ou mg GAE/mL^f)	Referência
Araçá	P	4,70 \pm 0,50	1,29 \pm 0,09 ^g	0,58 \pm 0,02 ^a	4,10 \pm 0,20 ^{c,e}	Genovese et al., 2008
Araticum	C	nd	90,72 \pm 4,99	nd	198,28 \pm 8,24 ^{c,f}	Roesler et al., 2007
Araticum	S	nd	136,99 \pm 7,56	nd	417,54 \pm 11,06 ^{c,f}	Roesler et al., 2007
Araticum	P	nd	20,31 \pm 3,52	nd	1321,93 \pm 20,77 ^{c,f}	Roesler et al., 2007
Banha-de-galinha	C	nd	99,18 \pm 3,93	nd	37,42 \pm 1,54 ^{c,f}	Roesler et al., 2007
Banha-de-galinha	S	nd	7,38 \pm 0,42	nd	nd	Roesler et al., 2007
Banha-de-galinha	P	nd	4,68 \pm 0,57	nd	nd	Roesler et al., 2007
Bocaiúva	P	nd	nd	49,00 \pm 2 ^b	nd	Ramos et al., 2008
Buriti	P	0,70 \pm 0,00	1,081 \pm 0,06 ^g	142 \pm 5,0 ^{b,h}	5400,00 \pm 10,00 ^{d,e}	Barreto et al., 2009
Cagaita	P	9,80 \pm 0,20	1,5 \pm 0,11 ^g	1,80 \pm 0,20 ^b	13,30 \pm 0,40 ^{c,e}	Genovese et al., 2008
Cagaita	C + P	nd	18,38 \pm 0,81	nd	879,33 \pm 11,70 ^{c,f}	Roesler et al., 2007
Cagaita	S	nd	136,96 \pm 6,21	nd	247,93 \pm 0,29 ^{c,f}	Roesler et al., 2007
Gabirola/Guavira	P	234 \pm 2	nd	nd	nd	Vallilo et al., 2006
Lobeira	C	nd	35,15 \pm 19,26	nd	1328,98 \pm 9,42 ^{c,f}	Roesler et al., 2007
Lobeira	S + P	nd	35,58 \pm 19,72	nd	199,34 \pm 2,75 ^{c,f}	Roesler et al., 2007
Pequi	C	nd	209,37 \pm 3,57	nd	17,98 \pm 0,35 ^{c,f}	Roesler et al., 2007
Pequi	S + P	nd	27,19 \pm 1,24	nd	534,43 \pm 7,32 ^{c,f}	Roesler et al., 2007
Pequi ⁱ	P	nd	nd	6,78 ^b	nd	De-Oliveira et al, 2006
Pequi ^j	P	nd	nd	8,37 ^b	nd	De-Oliveira et al, 2006
Pequi ^k	P	nd	nd	11,34 ^b	nd	De-Oliveira et al, 2006

AA: Ácido ascórbico; GAE: Ácido gálico; DPPH: 2,2-difenil-1-picril hidrazil; ^{c,d} Métodos para avaliação da capacidade de sequestrar radicais livres; ^gValores convertidos para g GAE/kg; ^hValores convertidos para $\mu\text{g/g}$; ⁱcoleta na árvore; ^jcoleta no chão após queda natural; ^kcondição i + três dias em condição ambiente; nd: não determinado.

2.4.3 Composição em Ácidos Graxos

O Quadro 2.3 apresenta a composição de ácidos graxos presentes nos frutos do cerrado descritos.

Dentre estes, amburama, baru, bocaiuva, buriti, jatobá e pequi apresentam em sua composição um conteúdo lipídico rico em ácido oléico, o que os torna úteis na indústria alimentar (GARCIA et al., 2007).

Além de ácido oléico, destaca-se no pequi também seu conteúdo de ácido palmítico (SEGALL et al., 2006; HIANE et al., 1992), enquanto que no baru e no jatobá a fração de ácido linoléico (MATUDA; NETTO, 2005; GARCIA et al., 2007). O ácido linoléico é considerado um dos ácidos essenciais ao corpo humano.

Os ácidos graxos insaturados foram os de maior ocorrência em todos os frutos comparados (Tabela 2.2), sendo o jatobá-do-cerrado com maior incidência (85,60%). O alto grau de insaturação dos ácidos graxos pode conferir ao óleo alta suscetibilidade a processos oxidativos (VALLILO et al., 1990). Amêndoa de bocaiuva foi o que apresentou maior conteúdo de ácidos graxos saturados (49,70%).

Desta forma, os frutos do cerrado apresentam grande potencial para a exploração de óleos, principalmente os essenciais, que podem ser utilizados como suplementos alimentares.

Quadro 2.3. Composição de ácidos graxos de frutos do cerrado.

Óleo	C6	C8	C10	C12	C14	C16	C16:1 (n7)	C17	C17:1 (n8)	C18	C18:1 (n9)	C18:1 (n7)	C18:1 (n6)	C18:2 (n6)	C18:3 (n6)	C20	C20:1 (n11)	C20:1 (n7)	C22	C22:1 (n9)	C24	Referência
Amburana (A)	nd	nd	nd	nd	nd	15,60	0,30	0,10	nd	4,50	46,90	0,10	1,00	11,90	4,80	2,60	3,00	nd	5,10	0,20	3,90	Garcia et al., 2007
Baru (A)*	nd	nd	nd	nd	nd	7,49	0,10	0,10	nd	5,01	47,98	0,10	nd	28,68	1,16	1,22	2,9	nd	3,10	0,40	3,61	Garcia et al., 2007; Takemoto et al., 2001; Togashi; Sgarbieri, 1994; Vallilo et al., 1990
Bocaiúva (P)*	0,47	0,43	0,25	1,71	0,47	16,69	2,05	nd	nd	4,01	67,02	nd	nd	4,71	1,81	0,43	nd	nd	nd	nd	nd	Hiane et al., 1990; Hiane et al., 1992; Hiane et al., 2005;
Bocaiúva (A)	nd	5,96	1,79	12,95	9,49	1,62	2,29	nd	nd	6,58	40,17	nd	nd	5,91	1,92	0,30	nd	nd	nd	nd	nd	Hiane et al., 2005
Buriti (P)*	nd	nd	nd	0,03	0,08	18,18	0,32	0,08	0,07	1,86	74,59	nd	nd	3,47	1,65	0,12	0,53	nd	0,09	nd	0,09	Silva et al., 2009; Schlemmer; Sales, 2010
Jatobá-do-Cerrado (S)	nd	nd	nd	nd	nd	8,90	nd	nd	nd	4,70	31,60	nd	nd	52,80	1,20	0,80	nd	nd	nd	nd	nd	Matuda; Netto, 2005
Pequi (P+S)	nd	nd	nd	nd	nd	44,28	nd	nd	nd	2,58	48,71	nd	nd	4,43	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	Segall et al., 2006
Pequi (S)	nd	nd	nd	nd	0,30	26,00	nd	nd	nd	1,20	63,60	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	Hiane et al., 1992
Pequi (P)*	nd	nd	nd	nd	0,15	39,96	0,79	nd	nd	1,75	55,08	0,30	nd	1,48	0,62	0,17	0,70	0,20	nd	nd	nd	Martins, 1983; Hiane et al., 1992; Garcia et al., 2007; Khouri et al., 2007; Miranda-Vilela et al., 2009; Mariano et al., 2009; Schlemmer; Sales, 2010

A: amêndoa; P: polpa; S: semente; C6: ácido capríco; C8: ácido caprílico; C10: ácido cáprico; C12: ácido laurico; C14: ácido mirístico; C16: ácido palmítico; C16:1(n7): ácido palmitoléico; C17: ácido margárico; C17:1(n8): ácido margaroléico; C18: ácido esteárico; C18:1(n9): ácido oléico; C18:1(n7): ácido vascênico; C18:1(n6): *cis6. cis9* - ácido octadecadienóico; C18:2(n6): ácido linoléico; C18:3(n-6): ácido linoléico; C20: ácido araquídico; C20:1(n11): ácido gadoléico; C20:1(n7): *cis11* - ácido eicosenóico; C22: ácido behênico; C22:1(n9): ácido erúico; C24: ácido lignocérico. *Dados calculados pelas médias dos resultados obtidos pelos autores.

Tabela 2.2. Conteúdo de óleos graxos insaturados e saturados em frutos do cerrado

Óleo	AGS (%)	AGI (%)
Amburana (A)	31,80	68,20
Baru (A)	20,16	79,84
Bocaiúva (P)	24,45	75,55
Bocaiúva (A)	49,70	50,30
Buriti (P)	20,31	79,69
Jatobá-do-Cerrado (S)	14,40	85,60
Pequi (P+S)	46,86	53,14
Pequi (S)	30,19	69,81
Pequi (P)	41,53	58,47

AGS: Ácidos graxos saturados; AGI: Ácidos graxos insaturados; A: Amêndoa; P: Polpa; S: Semente

2.5 CONCLUSÃO

Os frutos do cerrado em geral apresentam em sua composição alto valor nutricional, demonstrando potencial tecnológico no desenvolvimento e na produção de alimentos. Além disso, a presença significativa de compostos bioativos em frutos do cerrado é de extrema importância para a valorização desses frutos e conseqüentemente do bioma Cerrado.

No que se refere às aplicações biotecnológicas não se encontrou nenhuma referência, considerando a utilização desses frutos. Contudo é possível vislumbrar os empregos biotecnológicos mais adequados a cada fruto baseando-se em sua composição.

2.6 REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, M. L. S.; GUEDES, I.; JUNIOR, P. A.; MOREIRA, S. G. C.; NETO, N. M. B.; CORREA, D. S.; ZILIO, S. C. Characterization of buriti (*Mauritia flexuosa* L.) oil by absorption and emission spectroscopies. **Journal of Brazilian Chemistry Society**, v. 16, n. 6A, p. 1113-1117, 2005.
- ALMEIDA, S. P.; PROENÇA, C. E. B.; SANO, S. M.; RIBEIRO, J. F. **Cerrado: Espécies Vegetais Úteis**. Planaltina: EMBRAPA - CPAC, 464 p.,1998.
- ALVES, E. U.; SILVA, K. B.; GONÇALVES, E. P.; CARDOSO, E. A.; ALVES, A. U. Germinação e vigor de sementes de *Talisia esculenta* (St. Hil) Radlk em função de diferentes períodos de fermentação. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 30, n. 4, p. 761-770, 2009.

ALVES, G. L.; FRANCO, M. R. B. Headspace gas chromatography–mass spectrometry of volatile compounds in murici (*Byrsonima crassifolia* L. Rich). **Journal of Chromatography A**, v. 985, n. 4, p. 297-301, 2003.

ARAÚJO, I. A.; FRANCO, C. F. O.; NETO, M. B.; FONTINÉLLI, I. S. C. Avaliação fenológica dos frutos de progênies de Mangabeira cultivadas no litoral paraibano. **I Simpósio Brasileiro sobre Cultura da Mangaba**. Aracajú/SE: Embrapa semi-árido, 2003.

AVIDOS, M. F. D.; FERREIRA, L. T. Frutos do Cerrado: preservação gera muitos frutos. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v. 3, n.3, 2000.

BARRETO, G. P. M.; BENASSIB, M. T.; MERCADANTE, A. Z. Bioactive Compounds from Several Tropical Fruits and Correlation by Multivariate Analysis to Free Radical Scavenger Activity. **Journal of Brazilian Chemistry Society**, v. 20, n. 10, p. 1856-1861, 2009.

BRANDÃO, M.; FERREIRA, P. B. D. Flora apícola do Cerrado. **Informe Agropecuária**, v. 16, n. 168, p. 1-14, 1991.

BREDA, C. A. **Desidratação da polpa do fruto da guavira (*Campomanesia adamantium*) pelo processo em camada de espuma**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, Brasil, 2011.

CARVALHO, F. M. V.; JÚNIOR, P. M. J.; FERREIRA, L. G. The Cerrado into-pieces: Habitat fragmentation as a function of landscape use in the savannas of central Brazil. **Biological Conservation**, v. 142, p. 1392-1403, 2009.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais e uso da madeira**. Colombo: EMBRAPA - CNPF, 640 p., 1994.

CORRÊA, M. P. **Dicionário das Plantas úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas**. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura/Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, v. 4, 1969.

COLDITZ, G. A.; BRANCH, L. G.; LIPNICK, R. J.; WILLETT, W. C.; ROSNER, B.; POSNER, B. M.; CH HENNEKENS, . H. C. Increased green and yellow vegetable intake and lowered cancer death in an elderly population. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 41, p. 32-36, 1985.

DA-SILVA, S., M.; BRAIT, J. D. A.; FARIA, F. P.; SILVA, S. M.; OLIVEIRA, S. L.; BRAGA, P. F.; MARIANO-da-SILVA, F. M. S. Chemical characteristics of pequi fruits (*Caryocar brasiliense* Camb.) native of three municipalities in the State of Goiás - Brazil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 4, p. 771-777, 2009.

DE-ANDRADE, R. S. G; DINIZ, M. C.; NEVES, E. A; NÓBREGA, J. A. Determinação de ácido ascórbico em três frutos tropicais. **Eclética Química**, v.27, p. 1-9, 2002.

DE-OLIVEIRA, M. N. S.; GUSMÃO, E.; LOPES, P. S. N.; SIMÕES, M. O. M.; RIBEIRO, L. M.; DIAS, B. A. S. Estágio de maturação dos frutos e fatores relacionados aos aspectos nutritivos e de textura da polpa de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n. 3, p. 58-68, 2006.

EITEN, G. The Cerrado vegetation of Brazil. **Botanical Reviews**, v. 38, p. 201-341, 1972.

GARCIA, C. C.; FRANCO, P. I. B. M. ZUPPA, T. O. ANTONIOSI FILHO, N. R.; LELES, M. I. G. Thermal stability studies of some cerrado plant oils. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 87, n. 3, p. 645-648, 2007.

GENOVESE, M. I.; PINTO, M. S.; GONÇALVES, A. E. S. S.; LAJOLO, F. M. Bioactive Compounds and Antioxidant Capacity of Exotic Fruits and Commercial Frozen Pulpes from Brazil. **Food Science and Technology International**, v. 14; n. 3, p. 207-214, 2008.

GUIMARÃES, M. M.; SILVA, M. S. Valor nutricional e características químicas e físicas de frutos de murici-passa (*Byrsonima verbascifolia*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 4, p. 817-821, 2008.

GUIMARÃES, R. C. A.; VIANNA, A. C.; MACHADO, A. A.; FAVARO, S. P. Caracterização Química da Farinha Desengordurada e Obtenção do Concentrado Protéico de Amêndoas de Baru (*Dipterix alada* Vog.). **IX Simpósio Nacional do Cerrado e II Simpósio Internacional de Savanas Tropicais**, 2008.

HERINGER, E. P. **Contribuição ao conhecimento da flora da Zona da Mata de Minas Gerais**. Rio de Janeiro: Centro Nacional de Ensino e Pesquisas Agronômicas, 186 p. 1947.

HIANE, P. A.; PENTEADO, M. V. C.; BADOLATO, E. Teores de ácidos graxos e composição centesimal do fruto e da farinha da bocaiuva (*Acrocomia mokayáyba* Barb. Rodr.). **Alimentos e Nutrição**, v. 2, p. 21-26, 1990.

HIANE, P. A.; RAMOS, M. I. L.; RAMOS FILHO, M. M.; PEREIRA, J. G. Composição Centesimal e Perfil de Ácidos Graxos de alguns frutos nativos do Estado de Mato Grosso do sul. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 10, n. 1, p. 35-42, 1992.

HIANE, P. A.; RAMOS FILHO, M. M.; RAMOS, M. I. L.; MACEDO, M. L. R. Bocaiúva, *Acrocomia Aculeata* (Jacq.) Lodd., pulp and kernel oils: characterization and fatty acid composition. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.8, n.3, p. 256-259, 2005.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Estudo Nacional da Despesa Familiar: Tabelas de Composição de Alimentos**. 5ªed. Rio de Janeiro: IBGE, 137 p., 1999.

- KHOURI, J.; RESCK, I. S.; POÇAS-FONSECA, M.; SOUSA, T. M.M.; PEREIRA, L. O. OLIVEIRA, A. B.B.; GRISOLIA, C. K. Anticlastogenic potential and antioxidant effects of an aqueous extract of pulp from the pequi tree (*Caryocar brasiliense* Camb). **Genetics and Molecular Biology**, v. 30, n. 2, p. 442-448, 2007.
- KLINK, C. A.; MACHADO, R.. B. A Conservação do Cerrado Brasileiro. **Megadiversidade**, v. 1, n. 1. p. 147-155, 2005.
- KOPPER, A. C.; SARAIVA, A. P. K.; RIBANI, R. H.; LORENZI, G. M. A. C. Utilização tecnológica da farinha de bocaiuva na elaboração de biscoitos tipo cookie. **Alimentos e Nutrição**, v. 20, n. 3, p. 463-469, 2009.
- LIMA, A. Ouro do Cerrado. **Revista Minas faz Ciência**, n. 27, p. 38-41, 2006.
- LIMA, M. A. C.; ASSIS, J. S.; GONZAGA NETO, L. Caracterização dos frutos de goiabeira e seleção de cultivares na região do submédio São Francisco. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, n. 1, p. 273-276, 2002.
- LIMA, T. B.; SILVA, O. N.; OLIVEIRA, J. T. A.; VASCONCELOS, L. M.; SCALABRINA, F. B.; ROCHA, T. L.; GROSSI-DE-SÁ, M. F.; SILVA, L. P.; GUADAGNIN, R. V.; QUIRINO, B. F.; CASTOR, C. F. S.; LEONARDECZ, E.; FRANCO, O. L. Identification of *E. dysenterica* laxative peptide: a novel strategy in the treatment chronic constipation and irritable bowel syndrome. **Peptides**, v. 31, n. 8, p. 1426-1433, 2010.
- LORENZI, G. M. A. C. **Acrocomia aculeata (Lodd.) ex Mart. Arecaceae: bases para o extrativismo sustentável**. 172f. Tese. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.
- LORENZI, H. *Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil*. Nossa Odessa: **Plantarum**, 352 p. 1992.
- MARIANO, R. G. B.; COURI, S.; FREITAS, S. P. Enzymatic technology to improve oil extraction from *caryocar brasiliense* Camb (pequi) pulp. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 31, n. 3, p. 637-643, 2009.
- MARRIS, E. Conservation in Brazil: the forgotten ecosystem. **Nature**, v. 437, p. 944-945, 2005.
- MARTINS, H. **Estudo das oleaginosas nativas de Minas Gerais**. Belo Horizonte: Fundação Centro Tecnológico de Minas Gerais/CETEC, v.1, 152p., 1983.
- MARTINS, B. A. **Avaliação físico-química de frutos do cerrado *in natura* e processados para a elaboração de multimisturas**. Dissertação de Mestrado. Universidade Católica de Goiás, Goiânia, Brasil, 2006.

MATUDA, T. G.; NETTO, F. M. Caracterização química parcial da semente de jatobá-do-cerrado (*Hymenaea stigonocarpa* mart.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 2, p. 353-357, 2005.

MÉLO, E. A.; LIMA, V. L. A. G.; NASCIMENTO, P. P. Temperatura no armazenamento de pitanga. **Scientia Agrícola**, v. 57, n. 4, p. 629-634, 2000.

MENDONÇA, R.; FELFILI, J.; WALTER, B.; SILVA JR., J. C.; REZENDE, A.; FILGUEIRAS, T.; NOGUEIRA, P. *Flora vascular do Cerrado*. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P.. **Cerrado: ambiente e flora**. Planaltina, DF: EMBRAPA-CPAC, p. 288-556, 1998.

MIRANDA-VILELA, A. L.; GRISOLIA, C. K.; RESCK, I. S.; MENDONÇA, M. A. Characterization of the major nutritional components of *Caryocar brasiliense* fruit pulp by NMR spectroscopy. **Química Nova**, v. 32, n. 9, p. 2310-2313, 2009.

MYERS, N.; MITTERMEIER, R. A.; MITTERMEIER, C. G.; DA-FONSECA, G. A. B.; KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, p. 853–858, 2000.

OLIVEIRA, D. L.; ROCHA, C. Alternativas sustentáveis para a merenda escolar com o uso de plantas do cerrado, promovendo educação ambiental. **Revista Eletrônica do Mestrado em Educação Ambiental**, v. 21, p. 35-53, 2008.

OLSON, J. A. Provitamin A function of carotenoids: the conversion of β -carotene into vitamin A. **Journal of Nutrition**, v. 119, n. 1, p. 105-108, 1989.

PELLOSO, I. A. O.; VIEIRA, M. C.; ZÁRATE, N. A. H. Avaliação da diversidade genética de uma população de guavira (*Campomanesia adamantium* Cambess, O. Berg, Myrtaceae). Resumos do 2º Seminário de Agroecologia de Mato Grosso do Sul - *Uso e Conservação dos Recursos Naturais*. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 3, Suplemento especial, p. 49-52, 2008.

PULIDO, R.; BRAVO, L.; SAURA-CALIXTO, F. Antioxidant Activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing antioxidant power assay. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 48, n. 8, p. 3396-3402, 2000.

RAMOS, M. I. L.; RAMOS FILHO, M.; HIANE, P. A.; BRAGA NETO, J. A.; SIQUEIRA, E. M. A. Qualidade nutricional da polpa de bocaiúva *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28 (Supl.), p. 90-94, 2008.

RATTER, J. A.; RIBEIRO, J. F.; BRIDGEWATER, S. The Brazilian Cerrado vegetation and threats to its biodiversity. **Annals of Botany**, v. 80, p. 223-230, 1997.

REZENDE, C. M.; FRAGA, S. R. Chemical and aroma determination of the pulp and seeds of murici (*Byrsonima crassifolia* L.). **Journal of Brazilian Chemistry Society**, v. 14, n. 3, p. 425-428, 2003.

RIGUEIRA, J. A. Pequi: Cultivo, **Caracterização físico-química e processamento**. Monografia. Universidade de Brasília - Centro de Excelência em Turismo. Brasília/ DF, 2003.

RIBEIRO, J. F.; WALTER, B. M. T. Fitofisionomias do bioma cerrado. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. **Cerrado: ambiente e flora**. Planaltina, DF: EMBRAPA-CPAC, p. 89-152, 1998.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Os carotenóides como precursors de vitamina A. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 19, n. 4, p. 227-242, 1985.

ROESLER, R.; MALTA, L. G.; CARRASCO, L. C.; HOLANDA, R. B.; SOUSA, C. A. S.; PASTORE, G. M. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 1, n. 27, p. 53-60, 2007.

ROESLER, R.; MALTA, L. G.; CARRASCO, L. C. PASTORE, G. Evaluation of the antioxidant properties of the Brazilian Cerrado fruit *Annona crassiflora* (Araticum). **Journal of Food Science**, v. 71, n. 2, 2006.

SCHLEMMER, D.; SALES, M. J. A. Thermoplastic starch films with vegetable oils of Brazilian Cerrado - Thermal characterization. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 99, p. 675-679, 2010.

SEGALL, S. D. ARTZ, W. E.; RASLAN, D. S.; FERRAZ, V. P.; TAKAHASHI, J. A. Triacylglycerol analysis of pequi (*Caryocar brasiliensis* Camb.) oil by electrospray and tandem mass spectrometry. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 86, p. 445-452, 2006.

SILVA, J. A.; SILVA, D. B.; JUNQUEIRA, N. J.; ANDRADE, L. R. M. **Frutas Nativas dos Cerrados**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária do Brasil -(EMBRAPA), Brasil, p. 50-149, 1994.

SILVA, D. B.; SILVA, J. A.; JUNQUEIRA, N. T. V.; ANDRADE, L. R. M. **Frutas do cerrado**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 178 p., 2001a.

SILVA, J. F.; FARIÑAS, M. R.; FELFILI, J. M.; KLINK, C. A. Spatial heterogeneity, land use and conservation in the cerrado region of Brazil. **Journal of Biogeography**, v. 33, p. 536–548, 2006.

SILVA, M. R.; LACERDA, D. B. C. L.; SANTOS, G. G.; MARTINS, D. M. O. Caracterização química de frutos nativos do cerrado. **Ciência Rural**, v.38, n.6, p.1790-1793, 2008.

- SILVA, M. R.; SILVA, M. S.; MARTINS, K. A.; BORGES, S. Utilização Tecnológica dos frutos de jatobá-do-cerrado e de jatobá-da-mata na elaboração de biscoitos fontes de fibra alimentar e isentos de açúcares. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, n. 21, v. 2, p. 176-182, 2001b.
- SILVA, S. M.; SAMPAIO, K. A.; TAHAM, T.; ROCCO, S. A.; CERIANI, R.; MEIRELLES, A. J. A. Characterization of oil extracted from buriti fruit (*Mauritia flexuosa*) grown in the Brazilian Amazon Region. **American Oil Chemistry Society**, v. 86, p. 611-616, 2009.
- SILVA FILHO, P. V. Plantas do Cerrado produtoras de matéria tintorial. **Informe Agropecuário**, v. 16, n. 173, p. 28-32, 1992.
- TAKEMOTO, E.; OKADA, I. A.; GARBELOTTI, M. L.; TAVARES, M.; AUED-PIMENTEL, S. Chemical composition of seeds and oil of baru (*Dipteryx alata* Vog.) native from Pirenópolis, State of Goiás, Brazil. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 60, n. 2, p.113-117, 2001.
- TELLES, M. P. C.; SILVA, R. S. M.; CHAVES, L. J.; COELHO, A. S. G.; FILHO, J. S. F. D. Divergência entre subpopulações de cagaiteira (*Eugenia dysenterica*) em resposta a padrões edáficos e distribuição espacial. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, n. 11, p. 1387-1394, 2001.
- TOGASHI, M.; SGARBIERI, V. C. Caracterização química parcial do fruto do baru (*Dipteryx alata*, Vog.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 14, n. 1, p. 85-95, 1994.
- VALLILO, M. I.; LAMARDO, L. C. A.; GABERLOTTI, M. L.; DE-OLIVEIRA, E.; MORENO, P. R. H. Composição química dos frutos de *Campomanesia adamantium* (Cambessédes) O. Berg. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 4, 2006.
- VALLILO, M. I.; TAVARES, M.; AUED, S. Composição química da polpa e da semente do fruto do cumbaru (*Dipteryx alata* Vog.) - caracterização do óleo da semente. **Revista do Instituto Florestal**, v. 2, n. 2, p.115-125, 1990.
- VIEIRA, R. F.; COSTA, T. S. A.; DA-SILVA, D. B.; FERREIRA, F. R.; SANO, S. M. **Frutas nativas da região Centro-Oeste**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 320 p., 2006.

3 AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE AMILASE, β -GLICOSIDASE, XILANASE E CARBOXIMETILCELULASE VIA BIOPROCESSO EM ESTADO SÓLIDO EM RESÍDUOS DE FRUTOS DO CERRADO COM *Lichtheimia ramosa*

RESUMO: A produção de enzimas através de bioprocessamento em estado sólido (BES) utilizando-se resíduos agroindustriais como substratos para os micro-organismos é uma alternativa para a redução de custos. Este estudo teve como objetivo avaliar o desenvolvimento do micro-organismo *Lichtheimia ramosa* em substratos compostos de resíduos de bocaiuva (*Acrocomia aculeata*), guavira (*Campomanesia pubescens*) e pequi (*Caryocar brasiliense*), típicos da Região do Cerrado, e a sua capacidade de produção das enzimas amilase, xilanase, carboximetilcelulase (CMCase), e β -glicosidase via BES. Os resíduos foram triturados, homogeneizados, ajustados a pH 5,0 e umidade 60%, esterilizados e acondicionados em frascos tipo Erlenmeyer. Para o inóculo, micro-organismos foram cultivados em placas de petri, incubados a 25°C por 7 dias e inoculados nos cultivos principais. Após a inoculação os frascos foram incubados em estufa bacteriológica a 25°C, 30°C ou 35°C durante 168 horas. As amostragens foram realizadas a cada 24 horas, resultando em uma cinética de 8 pontos experimentais para as contagens microbiológicas e os testes enzimáticos. O micro-organismo apresentou boa adaptação em todos os substratos e temperaturas analisados, atingindo um melhor crescimento a 35°C. A atividade mais expressiva ocorreu para xilanase em 144h de cultivo, nos substratos compostos de resíduos de bocaiuva (35°C) e guavira (30°C) com 1,802 U/mL e 1,094 U/mL, respectivamente. Para atividade de β -glicosidase a melhor concentração foi obtida com resíduos de pequi a 30°C em 48h (0,061 U/mL), já em CMCase, o substrato com resíduos de guavira foi o que apresentou melhor atividade, a 35°C em 96h (0,787 U/mL) e para amilase o substrato com melhor desempenho foi o composto de resíduos de bocaiuva a 30°C em 96h (0,925 U/mL). Concluiu-se que *L. ramosa* apresentou boa adaptação aos substratos em todas as temperaturas estudadas, sendo que a 35°C obteve maior crescimento. *L. ramosa* apresentou potencial para produção de enzimas, principalmente xilanase, em resíduos de frutos do cerrado.

Palavras-chave: Enzimas; Aproveitamento de resíduos; Cultivos.

3.1 INTRODUÇÃO

As questões e preocupações ambientais destinadas a reduzir à poluição ambiental têm incentivado a busca de pesquisas para o aproveitamento de resíduos de fontes florestais, agroindustriais e urbanos em bioprocessos. A utilização de tais materiais como substratos para o cultivo microbiano são destinados a produzir as proteínas celulares, ácidos orgânicos, cogumelos, metabólitos secundários, enzimas, fontes de açúcares fermentáveis para a produção de etanol de segunda geração e de biomassa proteica tem sido relatada (NIGAM; SINGH, 1996; SÁNCHEZ, 2009).

No que tange às enzimas, o elevado preço é um dos maiores problemas para sua aplicação industrial (KANG et al., 2004), por isso os resíduos representam uma fonte alternativa para o crescimento microbiano visando sua produção com menor custo. Entre os resíduos comumente utilizados para este propósito estão bagaço de cana-de-açúcar, farelo de trigo, sabugo de milho, palha de milho e arroz, farelo de arroz, cascas de café, cascas e sementes de frutas e bagaço de laranja (SANCHEZ, 2009; PANDEY et al., 2000).

A região do Cerrado Brasileiro apresenta diversas espécies frutíferas com grande potencial de utilização agrícola, que são tradicionalmente utilizadas pela população local (SILVA et al., 2008), sendo que o interesse em processar e utilizar os frutos do cerrado tem atingido diversos segmentos da sociedade aumentando a liberação de resíduos (GUIMARÃES et al., 2008).

Esses resíduos são substratos que permitem o crescimento de microorganismos, capazes de produzir enzimas, principalmente os fungos, que são considerados organismos melhores adaptados ao BES, isso porque suas hifas podem crescer sobre a superfície das partículas sólidas, além de serem capazes de penetrar entre as partículas para colonizá-lo (MOO-YOUNG et al., 1983; SANTOS et al., 2004).

As enzimas são caracterizadas por apresentarem importância biotecnológica. As amilases constituem um dos mais importantes grupos de enzimas industriais com aplicações em diferentes indústrias como de alimentos, têxtil, química, farmacêutica e de detergentes (NIELSEN; BORCHERT, 2000; GUPTA et al., 2003; DEMIRKAN et al., 2005). Essas enzimas amilolíticas são responsáveis por 25 a 33% da produção mundial de enzimas (NGUYEN et al., 2002).

As enzimas xilanase, CMCCase e β -glicosidases apresentam potencial de hidrolisar a parede celular vegetal. As xilanases e CMCCase também possuem aplicação na maceração de vegetais, na clarificação de sucos e vinhos, na extração de aromas e pigmentos e branqueamento de polpa (KULKARNI; RAO, 1999).

As β -glicosidases microbianas tem recebido grande atenção devido suas aplicações na liberação de compostos ricos em aromas em sucos e vinhos (GUEGUEN et al., 1996; MARTINO et al., 2000), liberação de compostos fenólicos com atividades antioxidantes a partir de resíduos vegetais (ZHENG; SHETTY, 2000), síntese de oligossacarídeos e principalmente sua utilização em processos de hidrólise enzimática de celulose (DAROIT, 2007).

O fungo *Lichtheimia ramosa*, pertencente à Classe dos Zigomicetos, que apresenta rápida colonização, já foi reportado como produtor de xilanase e CMCCase, além de expressiva produção de β -glicosidase em farelo de trigo (GONÇALVES, 2011).

Dessa forma, objetivou-se com esse trabalho avaliar o desenvolvimento do micro-organismo *L. ramosa* em substratos compostos de resíduos de frutos do cerrado, bocaiuva (*Acrocomia aculeata*), guavira (*Campomanesia pubescens*) e pequi (*Caryocar brasiliense*) e sua capacidade de produção das enzimas amilase, xilanase, CMCCase, e β -glicosidase via BES.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Micro-organismo

Lichtheimia ramosa foi utilizada para o bioprocesso em estado sólido (BES). Este fungo foi isolado de bagaço de cana-de-açúcar, na região de Dourados/MS, mantido em meio de cultivo ágar batata dextrose (PDA) inclinado e imerso em óleo mineral, em meio contendo leite desnatado e em suspensão microbiana liofilizada (GONÇALVES, 2011).

3.2.2 Substratos

Os substratos utilizados foram resíduos dos frutos do cerrado, bocaiúva, guavira e pequi, todas coletadas na região da Grande Dourados/MS.

Para o processo fermentativo, os frutos foram despulpados para a obtenção dos resíduos, no caso da bocaiuva, o substrato foi composto de composto de pericarpo, mesocarpo fibroso (livre de polpa) e endocarpo lenhoso do fruto, sendo estas partes trituradas em moinho de facas e selecionadas através de peneiras com tamanho de malha entre 2,38 e 1,41 mm (Tyler entre 8 e 12).

Para o preparo do substrato contendo guavira, foi realizada a extração utilizando despulpadeira (Hauber Macanuda, Brasil), este substrato foi composto por cascas e sementes. Quanto ao pequi, foram utilizadas as cascas para o processo fermentativo, obtidas através prensa (Hauber Macanuda, Brasil).

Umidade de 60% e pH 5,0 foram as condições escolhidas para o processo fermentativo. Os substratos compostos de resíduos de guavira e pequi já apresentavam essas condições, mas no substrato com resíduos de bocaiuva foi necessário o ajuste de pH e umidade, adicionando ácido clorídrico (HCl) 1M e água destilada estéril, respectivamente.

Os substratos foram homogeneizados e esterilizados em autoclave a 121°C por 15 min. e acondicionados em frascos tipo Erlenmeyer de 500 mL.

3.2.3 Inóculo

Os micro-organismos foram cultivados em placas de petri contendo 15 mL de PDA, estes foram incubados a 25°C por 7 dias, para serem inoculados nos cultivos principais.

3.2.4 Bioprocesso em Estado Sólido (BES)

O BES ocorreu em frascos tipo Erlenmeyer de 500 mL com 50g de substrato, estes foram autoclavados a 121°C por 15 min. Posteriormente foi realizada a inoculação do fungo no substrato por meio do repique de uma área de micélio correspondente a 1 cm² de PDA contido na placa de petri, com o auxílio de uma espátula previamente esterilizada. Os frascos foram incubados em estufa bacteriológica a 25°C, 30°C, 35°C durante 168 horas.

As amostragens foram realizadas a cada 24 horas, resultando em uma cinética de 8 pontos experimentais para contagens microbiológicas e testes enzimáticos de β -glicosidase, xilanase, CMCase e amilase.

3.2.5 Determinações Microbiológicas de *Lichtheimia ramosa*

As determinações microbiológicas foram realizadas para fungos conforme metodologia descrita por Silva et al. (1997). Utilizou-se o método de diluição, empregando 25g de amostra em 225 mL de água peptonada (H₂O_p) 0,1%.

Para a contagem de fungos realizou-se o plaqueamento em superfície utilizando-se meio PDA e as placas foram incubadas em estufa bacteriológica à 25°C por 5 dias.

3.2.6 Extração Enzimática Aquosa

Para a extração da enzima foram adicionados 50 mL de água destilada nos frascos tipo Erlenmeyer fermentados, a cultura foi colocada em agitador orbital por 30 min a 130 rpm. Posteriormente filtrados em filtros sintéticos, obtendo assim o extrato enzimático bruto, para determinação das atividades (adaptado de LEITE et al. 2007).

3.2.7 Atividade de β -glicosidase

A atividade de β -glicosidase foi determinada com 50 μ L do filtrado enzimático, 250 μ L de tampão acetato 0,1M, pH 5,0 e 250 μ L de 4-nitrofenol β -glicopiranosideo 4 μ M, reagindo por 10 min. a 50°C. A reação enzimática foi paralisada com 2 mL de carbonato de sódio 2M. O produto formado foi quantificado por espectrofotometria, no comprimento de onda de 410 nm (LEITE et al., 2007). Uma unidade de atividade enzimática foi definida como a quantidade de enzima capaz de liberar 1 μ mol de nitrofenol por min. de reação.

3.2.8 Atividade de xilanase, CMCase e Amilase

A atividade de xilanase foi determinada com 0,1 mL do filtrado enzimático, 0,9 mL de tampão acetato 0,2M, pH 5,0 e 1% de xilana, reagindo por 10 min. à 50°C. A reação enzimática foi paralisada em banho de gelo.

A atividade de CMCase foi determinada com 0,1 mL do filtrado enzimático, 0,9 mL de tampão acetato 0,2M, pH 5,0 e 1% de CMC, reagindo por 10 min. a uma temperatura de 50°C, a reação enzimática foi paralisada em banho de gelo.

A atividade de amilase foi determinada com 0,1 mL do filtrado enzimático, 0,9 mL de tampão acetato 0,2M, pH 5,0 e 1% de amido de milho (Maizena, Unilever), reagindo por 10 min. a uma temperatura de 50°C, a reação enzimática foi paralisada em banho de gelo.

As atividades de xilanase, CMCase e amilase foram medidas através da quantidade de açúcar redutor presente no final da reação enzimática, quantificado pelo método de DNS (MILLER, 1959).

Uma unidade de atividade enzimática foi definida como a quantidade de enzima capaz de liberar 1 μmol dos respectivos produtos por minuto de reação.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 Determinações Microbiológicas de *Lichtheimia ramosa*

A rápida colonização e adaptação do micro-organismo *L. ramosa* permitiu que o mesmo se desenvolvesse em todos os substratos analisados e em temperaturas diferentes, 25°C, 30°C e 35°C (Figura 3.1).

Quanto à temperatura, a melhor foi a de 35°C para o desenvolvimento do micro-organismo em todos os substratos. Resíduos de guavira e pequi se mostraram os melhores substratos atingindo log de 6 UFC/g enquanto que para resíduos de bocaiuva obteve-se log de 5 UFC/g, todos a 35°C (Figura 3.1A, B e C). O crescimento em todos os substratos confirma o potencial de desenvolvimento do micro-organismo *L. ramosa* em resíduos de frutos.

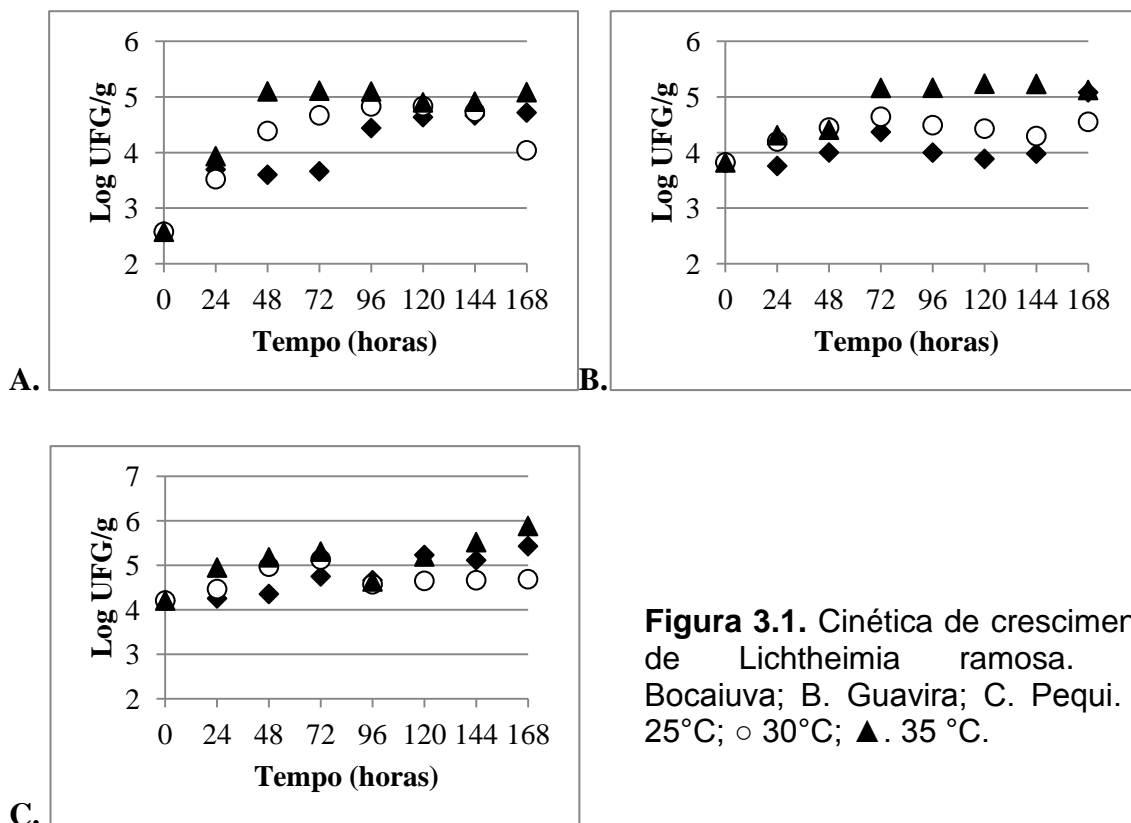


Figura 3.1. Cinética de crescimento de *Lichtheimia ramosa*. A. Bocaiuva; B. Guavira; C. Pequi. ♦. 25°C; ○ 30°C; ▲. 35 °C.

3.3.2 Análises Enzimáticas

A baixa atividade enzimática foi observada em todos os substratos para as análises de β -glicosidase, xilanase, CMCase e amilase (Tabela 3.1). A atividade mais expressiva ocorreu para xilanase com 144h de cultivo, nos substratos compostos de resíduos de bocaiuva (35°C) e guavira (30°C) com 1,802 U/mL e 1,094 U/mL, respectivamente. Para atividade de β -glicosidase o substrato com melhor concentração dessa enzima foi o com resíduos de pequi, nas temperaturas de 30°C em 48h (0,061 U/mL) e 35°C em 96h (0,058 U/mL).

No que se refere à atividade da enzima CMCase, o substrato com resíduos de guavira foi o que apresentou melhor atividade nas temperaturas de 30°C em 120h (0,656 U/mL) e 35°C em 96h (0,787 U/mL). Para amilase o substrato com melhor desempenho foi o composto de resíduos de bocaiuva, apresentando atividade nas três temperaturas analisadas, a 25°C em 48h (0,825 U/mL), a 30°C em 96h (0,925 U/mL) e a 35°C em 72h (0,812 U/mL).

Tabela 3.1. Atividade enzimática de β -glicosidase, xilanase, CMCase e amilase produzidas em substratos com resíduos de bocaiúva, guavira e pequi com *L. ramosa* cultivada nas temperaturas de 25°C, 30°C e 35°C.

Substratos	Tempo (h)	β -glicosidase (U/mL)			Xilanase (U/mL)			CMCase (U/mL)			Amilase (U/mL)		
		25°C	30°C	35°C	25°C	30°C	35°C	25°C	30°C	35°C	25°C	30°C	35°C
Bocaiuva	0	0,008	0,008	0,008	0,445	0,445	0,445	0,294	0,294	0,294	0,412	0,412	0,412
	24	0,020	0,009	0,010	0,254	0,337	0,261	0,359	0,333	0,300	0,825	0,468	0,637
	48	0,011	0,010	0,008	0,363	0,350	0,248	0,385	0,333	0,352	0,456	0,412	0,556
	72	0,011	0,010	0,011	0,254	0,350	0,261	0,300	0,333	0,313	0,412	0,412	0,812
	96	0,009	0,008	0,010	0,273	0,356	0,420	0,300	0,294	0,307	0,475	0,925	0,537
	120	0,013	0,008	0,010	0,242	0,242	0,541	0,581	0,346	0,287	0,668	0,706	0,431
	144	0,015	0,008	0,008	0,242	0,312	1,802	0,326	0,313	0,294	0,431	0,768	0,493
	168	0,008	0,014	0,022	0,369	0,305	0,484	0,339	0,379	0,313	0,643	0,706	0,475
Guavira	0	0,008	0,008	0,008	0,343	0,343	0,340	0,412	0,412	0,412	0,412	0,412	0,412
	24	0,024	0,036	0,032	0,615	0,343	0,449	0,493	0,406	0,675	0,587	0,412	0,412
	48	0,026	0,023	0,024	0,461	0,408	0,343	0,475	0,518	0,468	0,543	0,456	0,412
	72	0,018	0,020	0,050	0,502	0,698	0,455	0,406	0,406	0,481	0,456	0,450	0,481
	96	0,033	0,015	0,013	0,396	0,656	0,437	0,512	0,425	0,787	0,437	0,425	0,418
	120	0,022	0,028	0,015	0,402	0,408	0,455	0,418	0,656	0,637	0,431	0,543	0,406
	144	0,023	0,013	0,031	0,473	1,094	0,337	0,412	0,543	0,550	0,543	0,631	0,418
	168	0,014	0,027	0,018	0,408	0,461	0,343	0,500	0,418	0,412	0,556	0,406	0,406
Pequi	0	0,008	0,008	0,008	0,343	0,343	0,343	0,406	0,406	0,406	0,406	0,406	0,406
	24	0,031	0,010	0,014	0,751	0,360	0,431	0,643	0,406	0,462	0,431	0,506	0,681
	48	0,018	0,061	0,010	0,609	0,621	0,473	0,431	0,506	0,456	0,493	0,443	0,456
	72	0,009	0,020	0,026	0,609	0,609	0,585	0,418	0,431	0,406	0,456	0,406	0,512
	96	0,036	0,035	0,058	0,579	0,497	0,514	0,406	0,443	0,406	0,475	0,537	0,512
	120	0,029	0,011	0,027	0,609	0,449	0,414	0,406	0,406	0,475	0,412	0,543	0,481
	144	0,009	0,011	0,030	0,556	0,384	0,520	0,481	0,487	0,475	0,406	0,412	0,681
	168	0,036	0,033	0,029	0,650	0,508	0,538	0,425	0,406	0,406	0,406	0,518	0,500

Gonçalves (2011) reporta a atividade enzimática de β -glicosidase, xilanase e CMCase com o micro-organismo *L. ramosa* em bagaço de cana-de-açúcar e farelo de trigo, quando se trata do bagaço a produção foi de 0,28 U/mL para β -glicosidase, superando o verificado nesse trabalho (0,06 U/mL), além de 0,48 U/mL e 0,46 U/mL para xilanase e CMCase, respectivamente, atividades essas inferiores ao obtido com resíduos de frutos. Ainda no estudo de Gonçalves (2011), *L. ramosa* foi relatado como o micro-organismo com melhor produção de β -glicosidase (15,58 U/mL) em farelo de trigo, já descrito na literatura.

A diferença entre as produções quando utilizados resíduos e farelo de trigo, está relacionada com a composição do trigo, já que este possui maior quantidade de macro e micronutrientes disponíveis, comparado aos demais resíduos agroindustriais (DIAS et al., 2003).

Da-Silva et al. (2005) reportaram a produção de xilanase e CMCase via BES com o fungo *Thermoascus aurantiacus* utilizando diferentes resíduos agroindustriais, a melhor produção obtida tanto para xilanase quanto para CMCase foi o farelo de milho, de 107 U/mL e 60 U/mL, respectivamente. Quando o substrato utilizado foi bagaço de laranja a produção foi de 8 U/mL e 4 U/mL para xilanase e CMCase, respectivamente. Segundo os autores essa baixa produção se deve ao fato do substrato ser pobre para o desenvolvimento do micro-organismo e, portanto para a produção de enzimas.

Apesar da baixa produtividade de enzimas com os bagaços/resíduos, esses devem ser utilizados, pois o custo do substrato é baixo e deve ser levado em consideração (DAMASO et al., 2000).

Quanto a enzima amilase, a produção descrita nesse estudo entre 0,8 e 0,9 U/mL foi baixa quando comparada com outros estudos. Carvalho et al. (2008) descrevem a produção de 37 U/mL utilizando amido solúvel suplementado com peptona e 62 U/mL quando a suplementação foi com soro de leite, utilizando *Bacillus* sp., porém em fermentação submersa e sem a utilização de resíduos.

Portanto o estudo de novas espécies e de novos substratos para produção de enzimas é importante, tanto pelo aproveitamento de resíduos agroindustriais, quanto pela diminuição no custo da produção de enzimas.

3.4 CONCLUSÃO

L. ramosa cultivada em resíduos de frutos do cerrado por BES mostrou boa adaptação aos substratos em todas as temperaturas estudadas (25°C, 30°C e 35°C), porém a temperatura de 35°C foi a que propiciou o melhor desenvolvimento do micro-organismo.

A enzima que apresentou maior concentração foi xilanase, em 144h de cultivo nos substrato de resíduos de bocaiuva (35°C) e guavira (30°C).

Além disso, *L. ramosa* apresentou potencial para produção de enzimas. Os resultados evidenciam uma baixa atividade, porém, é importante destacar a possibilidade de utilização de resíduos como substratos, dada a sua disponibilidade.

3.5 REFERÊNCIAS

CARVALHO, R. V.; CORRÊA, T. L. R.; SILVA, J. C. M.; VIANA, A. P.; MARTINS, M. L. L. Otimização das condições de cultivo para a produção de amilases pelo termofílico *Bacillus* sp. e hidrólise de amidos pela ação da enzima. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 2, p. 380-386, 2008.

DAMASO, M. C. T.; ANDRADE, C. M. M. C.; PEREIRA JUNIOR., N. Use of corncob for endoxylanase production by thermophilic fungus *Thermomyces lanuginosus* IOC-4145. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 84-86, p. 821- 833, 2000.

DAROIT, D. J. **Caracterização de uma beta-glicosidase de *Monascus purpureus***. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil, 2007.

DA-SILVA, R.; LAGO, E. S.; MERHEB, C. W.; MACCHIONE, M. M.; PARK, Y. K.; GOMES, E. Production of xylanase and CMCase on solid state fermentation in different residues by *Thermoascus aurantiacus* miehe. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 36, p. 235-241, 2005.

DEMIRKAN, E. S.; MIKAMI, B.; ADACHI, M. HIGASA, T.; UTSUMI, S. α -Amylase from *B. amyloliquefaciens*: purification, characterization, raw starch degradation and expression in *E. coli*. **Process Biochemistry**, v. 40, n. 8, p. 2629-2636, 2005.

DIAS, E. S.; KOSHIKUMO, E. M. S.; SCHWAN, R. F.; SILVA, R. Cultivo do cogumelo *Pleurotus sajor-caju* em diferentes resíduos agrícolas. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 27, p. 1363-1369, 2003.

GONÇALVES, F. A. **Bioprospecção de microrganismos produtores de celulasas e hemicelulasas e sua avaliação sobre a produção de etanol a partir de bagaço de cana-de-açúcar**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, Brasil, 2011.

GUEGUEN, Y.; CHEMARDIN, P.; JANBON, G.; ARNAUD, A.; GALZY, P. A very efficient beta-glucosidase catalyst for the hydrolysis of flavor precursors of wines and fruit juices. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 44, n. 8, p. 2336-2340, 1996.

GUIMARÃES, R. C. A.; VIANNA, A. C.; MACHADO, A. A.; FAVARO, S. P. Caracterização química da farinha desengordurada e obtenção do concentrado protéico de amêndoas de baru (*Dipterix alada* Vog.). In: **IX Simpósio Nacional do Cerrado e II Simpósio Internacional de Savanas Tropicais**, p. 1-7, 2008.

GUPTA, R.; GIGRAS, P.; MOHAPATRA, H.; GOSWAMI, V. K.; CHAUHAN, B. Microbial α -amylases: a biotechnological perspective. **Process Biochemistry**, v. 38, n. 11, p. 1599-1616, 2003.

KANG, S. W., PARK, Y. S., LEE, J. S., HONG, S. I., KIM, S. W. Production of cellulases and hemicellulases by *Aspergillus niger* KK2 from lignocellulosic biomass. **Bioresource Technology**, v. 91, p. 153-156, 2004.

KULKARNI, N.; RAO, M. Molecular and biotechnological aspects of xylanases. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 23, p. 411-456, 1999.

LEITE, R. S. R.; BOCCHINI, D. A.; MARTINS, E. S.; DA-SILVA, D.; GOMES, E.; DA-SILVA, R. Production of cellulolytic and hemicellulolytic enzymes from *Aureobasidium pulluans* on solid state fermentation. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 137, p. 281-288, 2007.

MARTINO, A.; SCHIRALDI, C.; DI LAZZARO, A.; FIUME, I. SPAGNA, G.; PIFFERI, P.G.; DE-ROSA, M. Improvement of the flavour of Falanghina white wine using a purified glycosidase preparation from *Aspergillus niger*. **Process Biochemistry**, v. 36, p. 93-102, 2000.

MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugars. **Analytical Chemistry**, v. 31, p. 426-428, 1959.

MOO-YOUNG, M.; MOREIRA, A. R.; TENGEDY, R. P. Principles of solid-substrate fermentation. In: Smith, J.E., Berry, D.R., Kristiansen, B. (Eds.), **The Filamentous Fungi**, v. 4. Edward Arnold, London, p. 117-144, 1983.

NGUYEN, Q. D.; REZESSY-SZABÓ, J. M.; MARC CLAEYSSSENS, M.; STALS, I. HOSCHKE, A. Purification and characterisation of amylolytic enzymes from thermophilic fungus *Thermomyces lanuginosus* strain ATCC 34626. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 31, n. 3, p. 345-352, 2002.

NIELSEN, J. E.; BORCHERT, T. V. Protein engineering of bacterial α -amylases. **Biochimistry Biophysic Acta**, v. 1543, n. 2, p. 253-274, 2000.

NIGAM, P.; SINGH, D. Processing of agricultural wastes in solid state fermentation of microbial protein. **Journal of Science and Industrial Research**, v. 55, p. 373-380, 1996.

SANCHÉZ, C. Lignocellulosic Residues: Biodegradation and Bioconversion by Fungi. **Biotechnology Advances**, v.27, n.2, p. 185-194, 2009.

SANTOS, M. M.; ROSA, A. S.; DAL'BOIT, S.; MITCHELL, D. A.; KRIGER, N. Thermal denaturation: is solid-state fermentation really a good technology for the production of enzymes? **Bioresource Technology**, v. 93, n.3, p. 261-268, 2004.

SILVA, M. R.; LACERDA, D. B. C. L.; SANTOS, G. G.; MARTINS, D. M. O. Caracterização química de frutos nativos do cerrado. **Ciência Rural**, v.38, n.6, p.1790-1793, 2008.

SILVA, N. da; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos**. Editora: Livraria Varela, SP, Brasil, 1997.

PANDEY, A.; SOCCOL, C. R.; NIGAM, P.; SOCCOL, V. T. Biotechnological potential of agro-industrial residues, I: sugarcane bagasse. **Bioresource Technology**, v.74, p. 69-80, 2000.

ZHENG, Z.; SHETTY, K. Solid-State Bioconversion of phenolics from cranberry pomace and role of *Lentinus edodes* β -glucosidase. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n.3, p 895-900, 2000.

4 ENRIQUECIMENTO PROTEICO E OBTENÇÃO DE LIPASE PELO MICRO-ORGANISMO *Lichtheimia ramosa* VIA BIOPROCESSO EM ESTADO SÓLIDO UTILIZANDO RESÍDUOS DE FRUTOS DO CERRADO

RESUMO: O bioprocesso em estado sólido (BES) é um processo capaz de incrementar o teor proteico em resíduos através da utilização de micro-organismos. Este estudo objetivou avaliar o crescimento do fungo *L. ramosa*, por meio de BES, em resíduos dos frutos bocaiuva (*Acrocomia aculeata*), pequi (*Caryocar brasiliense*), guavira (*Campomanesia pubescens*), araticum (*Annona crassiflora*) e seriguela (*Spondias purpúrea*), visando o enriquecimento proteico destes substratos e a produção de enzimas lipásicas. Para serem utilizados como substratos, os resíduos foram triturados, homogeneizados, ajustados a pH 5,0 e umidade 60%, esterilizados e acondicionados em biorreatores do tipo bandejas plásticas. O inóculo utilizado foi de 10% (m/v). Os cultivos foram conduzidos em estufa bacteriológica a 30°C por 40 dias. Amostragens foram realizadas a cada 5 dias, sendo avaliadas as contagens microbiológicas para fungos e bactérias, composição proximal dos substratos e análises enzimáticas para lipases. O enriquecimento proteico foi obtido para todos os meios, tendo sido superior em resíduos de seriguela (391,66%), seguido de pequi (160,04%), araticum (143,31%), guavira (102,42%) e bocaiuva (67,88%). A contagem máxima de fungos foi obtida entre 25 e 35 dias, próximo a 40 dias o micro-organismo mostrou-se em fase de declínio em todos os substratos. Nas placas contendo meio específico para bactérias aeróbias mesófilas e psicotróficas não foi detectada a presença de micro-organismos. Para as análises enzimáticas obteve-se com o substrato composto de resíduos de guavira o melhor resultado (1,12 U/g), seguido de araticum (0,58 U/g), seriguela (0,41 U/g) e bocaiuva (0,21 U/g). Os resíduos compostos por pequi apresentaram atividade lipásica no início de BES decaindo durante o processo. Concluiu-se que o BES foi viável para o enriquecimento proteico de resíduos de frutos com o micro-organismo *L. ramosa*, promovendo assim o aproveitamento de rejeitos, além disso, observou que este micro-organismo tem potencial para produção de lipases.

Palavras-chave: Resíduos; Bioconversão; Lipase.

4.1 INTRODUÇÃO

O Cerrado é o segundo maior bioma brasileiro, superado em área apenas pela Amazônia. Ocupa 21% do território nacional, sendo considerado a última fronteira agrícola do planeta (BORLAUG, 2002).

Dentre as culturas nativas do Cerrado estão as diversas espécies frutíferas com grande potencial de utilização agrícola, que são tradicionalmente utilizadas pela população local. Os frutos, em geral, são consumidos *in natura* ou na forma de sucos, licores, sorvetes, geléias e doces diversos, sendo obtidos de modo extrativista (SILVA et al., 2008b). No que se referem às frutíferas nativas do Cerrado, bocaiuva (*Acrocomia aculeata*), pequi (*Caryocar brasiliense*), guavira (*Campomanesia pubescens*) e araticum (*Annona crassiflora*) merecem destaques, pela sua elevada ocorrência nesse bioma e pelas suas aplicações comerciais (VERA et al., 2005). O fruto seriguela (*Spondias purpúrea*), também característico do bioma Caatinga (BARBOSA et al., 1989), representa uma importante fonte de renda para várias propriedades rurais (RODRIGUES et al., 2006).

A utilização desses frutos gera resíduos de tal modo que sua eliminação no ambiente aumenta os problemas ambientais. Para minimizar tais problemas de descarte podem-se empregar esses resíduos como matérias-primas para produzir produtos de valor agregado utilizando processos fermentativos com espécies fúngicas, pois esses rejeitos com alta concentração de matéria orgânica favorecem o crescimento de fungos em substrato sólido (COUTO; SANROMÁN, 2005).

Entre os processos fermentativos comumente utilizados, está o BES, caracterizado pelo crescimento de micro-organismos sobre partículas sólidas e úmidas, no qual os espaços inter-partículas são preenchidos com um mínimo de água (MOO-YOUNG et al., 1983). Os materiais sólidos servem de fonte de nutrientes e de suporte, já que o crescimento microbiano ocorre nas superfícies das partículas sólidas. No caso de fungos, estes produzem hifas que penetram abaixo da superfície das partículas (CASTILHO et al., 2009), transformando resíduos sólidos em materiais ricos em proteínas pela conversão de açúcares, fibras e cinzas (DEL BIANCHI et al., 2001).

Os micro-organismos usualmente empregados em bioprocessos são *Aspergillus oryzae*, *A. niger*, *A. terreus*, *Rhizopus formosa*, *R. oligosporus*, *Pleurotus ostreatus*, *P. sajor-caju*, *Mortierella isabellina*, *Mucor circinelloides*, *Penicillium sp.*, e *Candida utilis* (ABU et al., 2000; JIN et al., 2002; FONSECA et al., 2009; SILVEIRA et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2011).

A utilização de BES para enriquecimento proteico de resíduos tem recebido muita atenção devido ao baixo nível tecnologia necessária, maior rendimento de conversão dos substratos e aplicabilidade direta do produto fermentado para fins alimentícios (NIGAM; SINGH, 1996).

Outra aplicação da BES é a produção de enzimas, utilizando vários substratos sólidos. A produção de enzimas lipásicas pelo BES com diferentes micro-organismos e substratos tem sido amplamente relatado na literatura (GODOY et al., 2009; HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ et al., 2009; SUN et al., 2009).

As lipases constituem um grupo importante de biocatalisadores para aplicações biotecnológicas e são enzimas muito relevantes tanto do ponto de vista fisiológico, uma vez que hidrolizam óleos e gordura em ácidos graxos livres, monoglicerídeos e diglicerídeos, essenciais aos processos metabólicos (GONÇALVES, 2007), quanto biotecnológico, como em indústrias de alimentos, de detergentes, obtenção de fármacos, tratamento biológico de águas residuais e aceleração da biodegradação de polímeros (CAVALCANTI et al., 2005; CARVALHO et al., 2005; CAMMAROTA; FREIRE, 2006).

Conforme Freire e Castilho (2000), BES aparece como uma alternativa interessante para o enriquecimento proteico e a produção de enzimas lipásicas, já que utilizam matéria-prima de baixo custo e abundante, reduzindo os custos de produção.

Até o presente momento não foram encontrados relatos da utilização do fungo *L. ramosa* para enriquecimento proteico e produção de enzimas lipásicas, porém outras espécies do mesmo gênero estão sendo estudados em aplicações biotecnológicas, como a produção de xilanase pelo micro-organismo *Absidia corymbifera* MTCC 4620 (GHATORA et al., 2006) e produção de quitosona para descoloração de efluentes (SILVA, 2010), *L. blakesleeana* como um produtor de fitase e xilanase (NEVES et al., 2011) e o próprio *L. ramosa* na produção de β -glicosidase (GONÇALVES, 2011).

L. ramosa pertence à Classe Zigomicetos, sendo reconhecida por sua rápida colonização. Durante décadas *L. corymbifera* e *L. ramosa* eram considerados sinônimos, apesar da diferenciação visual não ser simples, seus endósporos são significativamente diferentes (SARMA, 2006; FROMAGE et al., 2009). Porém, Hoffmann et al. (2007) e Kirk et al. (2001) reportam que os nomes genéricos *Tieghemella*, *Mycocladus*, *Proabsidia*, *Pseudo-Absidia*, *Lichtheimia* e *Protoabsidia* são tratados como sinônimos de *Absidia* na literatura.

O objetivo proposto para este trabalho foi avaliar o crescimento do fungo *L. ramosa*, por meio de BES, em resíduos dos frutos bocaiuva, pequi, guavira, araticum e seriguela, visando o enriquecimento proteico destes substratos e a produção de enzimas lipásicas.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Micro-organismo

O micro-organismo utilizado para o bioprocesso em estado sólido (BES) foi *Lichtheimia ramosa*, isolado de bagaço de cana-de-açúcar, na região de Dourados, MS. Este foi mantido em meio de cultivo ágar batata dextrose (PDA) inclinado e imerso em óleo mineral, em meio contendo leite desnatado e em suspensão microbiana liofilizada (GONÇALVES, 2011).

4.2.2 Substratos

Resíduos dos frutos seriguela, bocaiuva, araticum, guavira e pequi foram utilizados como substratos. Estes foram coletados na região da região da Grande Dourados/MS.

Foi utilizado para o BES cascas de seriguela, araticum e pequi, estes resíduos foram obtidos por meio de prensa (Hauber Macanuda, Brasil), com intuito de separar a casca das demais partes do fruto. Esses substratos já apresentavam pH 5,0 e umidade de 60%, não havendo necessidade de ajuste dessas condições. O substrato de bocaiuva, composto de pericarpo, mesocarpo fibroso (livre de polpa) e endocarpo lenhoso do fruto, foi triturado em moinho de facas e selecionado através de peneiras com tamanho de malha entre 2,38 e 1,41 mm (Tyler entre 8 e 12). Para o ajuste do pH em 5,0 foi adicionado 5 mL de HCl 1M. A umidade de 60% foi obtida através da adição de

água destilada estéril. Os resíduos de guavira, compostos de casca e semente, foram extraídos utilizando-se despoldadeira (Hauber Macanuda, Brasil). Esses substratos também já apresentavam pH 5,0 e umidade de 60%.

Todos os substratos foram homogeneizados e esterilizados em autoclave a 121°C por 15 min. e acondicionados em biorreatores.

4.2.3 Biorreatores

Biorreatores do tipo bandejas plásticas (poliestireno de alta densidade) com dimensões de 30x20x7cm (comprimento, largura, altura) foram utilizados. O volume útil utilizado em cada biorreator foi de 50% do volume total da bandeja. A esterilização ocorreu em autoclave a 121°C por 15 min.

4.2.4 Pré-inóculo “spawn”

No preparo do “spawn” foi utilizado trigo pré-cozido por 15 minutos, gesso e CaCO₃ nas proporções de 98,6%, 0,8% e 0,6%, respectivamente, para manutenção do pH, esses valores foram definidos a partir de estudos preliminares. O pH foi ajustado para 5,0 com adição de HCl 1M e a umidade inicial aferida em 50%, conforme metodologia adaptada de Aguiar Filho (2008). O trigo, o gesso e o CaCO₃ foram acondicionados em frascos tipo Erlenmeyer (300 mL) totalizando 50g de “spawn” em cada frasco, sendo posteriormente autoclavados a 121°C por 15 minutos (FONSECA et al., 2009). A inoculação do fungo no substrato foi realizada por meio do repique de uma área de micélio correspondente a 1 cm² de PDA contido em uma placa de petri preparada a partir do micro-organismo preservado, com a ajuda de uma espátula previamente esterilizada. Estes foram incubados em estufa bacteriológica a 30°C por 7 dias para servirem como inóculo nos cultivos principais.

4.2.5 Inoculação e Cultivo

A inoculação do micro-organismo do frasco tipo Erlenmeyer (“spawn”) para o biorreator tipo bandeja ocorreu por meio da transferência de 10% do volume correspondente ao substrato do cultivo principal (1000g), distribuído em 6 pontos definidos da bandeja.

Os cultivos foram realizados em estufa bacteriológica a 30°C, em duplicata. As bandejas foram incubadas por 40 dias e a cada 5 dias foi retirada uma alíquota de 45g, o que resultou em uma cinética com 9 pontos experimentais para composição proximal, determinações microbiológicas e testes enzimáticos. A amostragem foi retirada de variados pontos da bandeja, homogeneizados e utilizados para as análises.

4.2.6 Composição Proximal

A determinação de umidade ocorreu após secagem das amostras em estufa a 105°C até peso constante (AOAC, 1990; Método 934.01). As determinações de proteínas, lipídios, cinzas, carboidratos e fibras foram realizadas com base na matéria seca. Os lipídios totais foram determinados através do método Soxhlet (AOAC, 1990; Método 920.39) e o teor de fibra bruta por meio do método gravimétrico utilizando-se determinador de fibras (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008; Método 044/I). A proteína foi determinada através do método micro Kjeldhal, utilizando-se o fator 6,25 para converter o teor de nitrogênio em proteína bruta. O resíduo mineral fixo foi determinado por incineração em mufla a 550°C até peso constante (AOAC, 1990; Métodos 942.05 e 984.13, respectivamente). O teor de carboidratos foi determinado por diferença (Equação 4.1) (adaptado de RODRIGUES, 2010):

$$\%CHO = 100 - (\%CIN + \%LIP + \%PRO + \%FIB) \quad (\text{Eq. 4.1})$$

Onde: CHO = carboidratos; CIN = cinzas; LIP = lipídios; PRO = proteínas; FIB = fibras. Os experimentos foram realizados em triplicata e os resultados expressos em % (g/100g) pela média e desvio padrão.

4.2.7 Determinações Microbiológicas de *Lichtheimia ramosa*

As determinações microbiológicas foram realizadas para micro-organismos fungos conforme metodologia descrita por Silva et al. (1997). A fim de reduzir a retirada de meio cultivado das bandejas houve uma adaptação do método de diluição, de forma que para cada primeira diluição empregou-se 5g de amostra em 45 mL de água peptonada (H₂O_p) 0,1%.

Para a contagem realizou-se o plaqueamento em superfície utilizando-se meio PDA e as placas foram incubadas em estufa bacteriológica à 25°C por 5 dias.

4.2.8 Controle Microbiológico

Foram realizadas contagens para micro-organismos aeróbios mesófilos e psicrotrófilos conforme metodologia descrita por Silva et al. (1997), para monitorar possíveis contaminações.

A contagem de micro-organismos aeróbios mesófilos ocorreu pelo plaqueamento em profundidade com a utilização do meio de cultura ágar padrão para contagem (PCA) com incubação das placas invertidas em estufa bacteriológica à 35°C por 48 horas enquanto que na contagem de micro-organismos aeróbios psicrotrófilos o plaqueamento foi em superfície e a incubação à 7°C por 10 dias.

4.2.9 Enriquecimento Proteico

O enriquecimento proteico (EP) ou variação proteica foi calculado pela diferença percentual entre a concentração de proteínas apresentada no meio cultivado (maior acúmulo proteico) e meio tratado (inoculado) (Equação 4.2), de acordo com Fonseca et al. (2009).

$$EP(\%) = \left(\frac{\text{conteúdo proteico final (\%)}}{\text{conteúdo proteico inicial (\%)}} \times 100 \right) - 100 \quad (\text{Eq. 4.2})$$

4.2.10 Extração Enzimática Aquosa

Após cada bioprocesso, 5g do produto fermentado de cada ponto, foi transferido para frascos tipo Erlenmeyers com 50 mL de água destilada. Posteriormente estes foram colocados em agitador orbital (130 rpm) a 35° C por 30 min. O extrato foi filtrado em filtros sintéticos e em seguida centrifugado (3000 rpm, 5 min) (adaptado de LEITE et al., 2007). O sobrenadante, extrato enzimático bruto, foi armazenado em tubos de polipropileno com tampa de rosca.

4.2.11 Determinação de Atividade Lipásica

A atividade para lipase foi avaliada através do aumento da absorbância a 410 nm em espectrofotômetro, causado pela liberação de *p*-nitrofenol (*p*NP) após hidrólise de um substrato sintético *p*-nitrofenil palmitato (*p*NPP) (BUSSAMARA et al., 2010). Para iniciar a reação, 0,1 mL de extrato enzimático bruto foi adicionado a 0,9 mL de solução substrato contendo 3mg de *p*NPP dissolvido em 1 mL de isopropanol e 9 mL da seguinte solução: 2g de Triton X-100 e 0,5g de goma arábica, em 450 mL tampão fosfato 0,05M pH 7,0 (SILVA et al., 2005). A mistura foi incubada por 20 min. em banho-maria à 37°C, posteriormente foi colocada em banho de gelo e analisada em espectrofotômetro a 410 nm. Para solução controle foi utilizada 0,1 mL de enzima inativada (LIU et al., 2008).

Uma unidade de lipase (U) foi definida como a quantidade de enzima que libera 1 mol *p*-nitrofenol por minuto. A curva de calibração foi preparada utilizando *p*-nitrofenol como padrão.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1 Composição Proximal

A Tabela 4.1 apresenta a variação proteica obtida enquanto as Tabelas 4.2, 4.3, 4.4, 4.5 e 4.6 mostram a composição proximal dos substratos compostos de bocaiuva, seriguela, araticum, guavira e pequi, durante o BES.

Em todos os substratos fermentados houve o enriquecimento proteico (Tabela 4.1), sendo este mais expressivo no substrato composto de resíduos de seriguela, com variação protéica de 391,66%, seguido de pequi (160,04%), araticum (143,31%), guavira (102,42%) e bocaiuva (67,88%), em diferentes tempos de cultivo.

Tabela 4.1. Enriquecimento proteico após cultivos.

Substrato	Enriquecimento Proteico (%)	Tempo de Cultivo (dias)
Seriguela	391,66	35
Pequi	160,04	30
Araticum	143,31	35
Guavira	102,42	35
Bocaiuva	67,88	30

O aumento no teor de proteínas via bioprocessos já é consagrado na literatura (RAIMBAULT et al., 1985.; YANG et al., 1993; JIN et al., 2002; FONSECA et al., 2009), porém não há relato de enriquecimento proteico com o micro-organismo *L. ramosa*, além disso os valores entre 67,88% e 391,66%, obtidos nesse trabalho são expressivos.

Raimbault e Germon (1976) obtiveram enriquecimento proteico em resíduos de mandioca de 20% em um período de 30h com o micro-organismo *Aspergillus niger*. Silveira e Furlong (2007) demonstraram em seu trabalho o enriquecimento proteico de farelo de arroz desengordurado e farelo de trigo com o micro-organismo *Rhizopus sp.* de 68,75% e 56,52%, respectivamente e com o micro-organismo *Aspergillus oryzae* 7,29% e 14,49%, respectivamente no tempo de 72h.

Yang (1998) também estudou o enriquecimento proteico, utilizando resíduos de batata-doce por meio dos micro-organismos *Saccharomyces cerevisiae* e o *Rhizopus sp.*, obtendo incrementos no teor proteico de 3,2 para 8,4 e 18,5%, para cada micro-organismo, expressando enriquecimentos de 162,5% e 478,1%, respectivamente.

As diferenças da variação no teor de proteínas podem ser justificadas pela composição inicial dos substratos, pois os resíduos compostos com maior teor de carboidratos geralmente propiciaram um maior desenvolvimento do micro-organismo e enriquecimento proteico, como os resultados obtidos com seriguela, pequi e araticum. A transformação de carboidratos em proteínas por espécies fúngicas é reportada por Silveira e Furlong (2007).

Conforme relatado por Franco (2009) é difícil estabelecer uma comparação exata entre os resultados obtidos com diferentes resíduos, tendo em vista as diferenças em suas composições.

Tabela 4.2. Variação da composição proximal do meio contendo resíduos de bocaiuva pela ação do micro-organismo *L. ramosa*.

Tempo (dias)	Lipídios (%)*	Proteínas (%)*	Cinzas (%)*	Fibras (%)*	Carboidratos (%)
0	8,14 ± 0,16	3,55 ± 0,33	5,23 ± 0,41	62,18 ± 0,60	20,90
5	7,04 ± 0,27	4,38 ± 0,36	5,91 ± 0,25	59,47 ± 0,62	23,20
10	7,14 ± 0,50	4,74 ± 0,10	6,25 ± 0,35	64,26 ± 1,07	17,61
15	3,73 ± 0,05	5,10 ± 0,40	6,74 ± 0,62	71,14 ± 1,12	13,29
20	6,39 ± 0,42	4,99 ± 0,22	10,62 ± 0,03	65,55 ± 0,13	12,45
25	8,51 ± 0,78	5,00 ± 0,32	8,93 ± 0,29	68,68 ± 0,99	8,88
30	5,79 ± 0,50	5,96 ± 0,41	9,40 ± 0,12	76,74 ± 1,30	2,11
35	7,13 ± 0,72	4,66 ± 0,02	10,80 ± 0,02	74,02 ± 0,93	3,39
40	6,61 ± 0,38	5,71 ± 0,45	10,91 ± 0,61	76,63 ± 0,23	0,14

*Dados apresentados como média ± desvio padrão de triplicatas/amostra com base na matéria seca.

No que se refere à composição lipídica, houve acréscimo nos substratos compostos de guavira e pequi, enquanto que nos substratos de bocaiuva, seriguela e araticum estes decaíram. Robison e Nigam (2003) relataram a diminuição no teor de lipídios após a fermentação de farelo de arroz, o que pode ser resultado do uso de lipídios por fungos, possivelmente na síntese de fosfolipídios constituintes da membrana celular do tecido fúngico. Porém, Abu et al. (2000) observaram um aumento no teor de lipídios em fermentado de batata doce com *Aspergillus niger* e *Aspergillus oryzae*, enquanto a ação de *Pleurotus ostreatus* fez com que diminuísse de 1,9% para 0,5%.

Em geral, os fungos sintetizam seus próprios lipídios, sem a necessidade de adicioná-los ao meio de cultura, no entanto, sua adição pode melhorar o crescimento de fungos (OLIVEIRA et al., 2011).

Tabela 4.3. Variação da composição proximal do meio contendo resíduos de seriguela pela ação do micro-organismo *L. ramosa*.

Tempo (dias)	Lipídios (%)*	Proteínas (%)*	Cinzas (%)*	Fibras (%)*	Carboidratos (%)
0	4,45 ± 0,03	5,88 ± 0,90	1,47 ± 0,09	12,10 ± 0,36	76,10
5	4,02 ± 0,34	6,50 ± 0,71	1,98 ± 0,10	15,92 ± 0,97	71,58
10	4,36 ± 0,23	7,81 ± 0,10	2,53 ± 0,04	14,90 ± 0,77	70,40
15	4,29 ± 0,11	8,76 ± 0,63	2,89 ± 0,17	17,79 ± 0,98	66,27
20	3,89 ± 0,09	13,85 ± 0,16	3,96 ± 0,26	15,22 ± 0,65	63,08
25	3,77 ± 0,29	22,84 ± 0,13	2,79 ± 0,11	18,49 ± 0,54	52,11
30	3,63 ± 0,13	23,55 ± 0,16	2,67 ± 0,20	19,89 ± 1,56	50,26
35	3,69 ± 0,15	28,91 ± 0,19	2,45 ± 0,08	12,26 ± 0,35	52,69
40	3,23 ± 0,19	24,11 ± 0,06	2,18 ± 0,19	18,68 ± 0,75	51,80

*Dados apresentados como média ± desvio padrão de triplicatas/amostra com base na matéria seca

Pelos dados obtidos com o BES é possível perceber o incremento no teor de cinzas em todos os produtos fermentados. Ressalta-se o substrato composto de bocaiuva (Tabela 4.2) que dobrou seu teor de cinzas, seguido de pequi (Tabela 4.6). Fonseca et al. (2009) relataram aumento na concentração de cinzas de 11,2% para 14,8% em produto fermentado contendo farelo de arroz, palha de arroz e junco, com *P. sajor-caju*. As mudanças no conteúdo mineral podem ser atribuídas ao meio. Segundo Moda et al. (2005) a concentração de minerais ocorre devido ao metabolismo dos fungos, que poderiam ser correlacionados com outros mecanismos, tais como fixação de nitrogênio, o que sugere que o mesmo pode estar relacionado ao aumento no conteúdo mineral pela ação de *L. ramosa*.

Tabela 4.4. Variação da composição proximal do meio contendo resíduos de araticum pela ação do micro-organismo *L. ramosa*.

Tempo (dias)	Lipídios (%)*	Proteínas (%)*	Cinzas (%)*	Fibras (%)*	Carboidratos (%)
0	1,22 ± 0,13	5,98 ± 0,12	2,03 ± 0,10	60,78 ± 0,95	29,99
5	1,17 ± 0,01	9,26 ± 0,45	2,51 ± 0,22	58,75 ± 0,83	28,31
10	1,37 ± 0,02	9,35 ± 0,50	2,30 ± 0,25	60,17 ± 0,52	26,81
15	0,70 ± 0,27	7,98 ± 0,34	2,38 ± 0,25	62,92 ± 0,88	26,02
20	0,39 ± 0,01	7,98 ± 0,03	2,70 ± 0,12	64,52 ± 0,39	24,41
25	1,10 ± 0,04	8,88 ± 0,79	2,92 ± 0,03	63,63 ± 0,84	23,47
30	1,20 ± 0,90	11,26 ± 0,73	3,10 ± 0,39	68,30 ± 0,02	16,14
35	0,38 ± 0,29	14,55 ± 0,38	3,31 ± 0,31	67,00 ± 0,78	14,76
40	0,62 ± 0,18	12,79 ± 0,41	3,64 ± 0,20	67,38 ± 0,74	15,57

*Dados apresentados como média ± desvio padrão de triplicatas/amostra com base na matéria seca.

O teor de fibras aumentou em todos os substratos analisados. Zusman et al. (1997) observaram aumento de 78% de fibras em espigas de milho cultivadas com *P. ostreatus*. Araujo et al. (2008) ao estudar o enriquecimento proteico da palma forrageira com *S. cerevisiae* obteve aumento no teor de fibras utilizando 2% de inóculo.

A justificativa para o aumento no teor de fibras durante o BES pode estar ligada a parede celular dos fungos, já que esta é composta por fibras de quitina, que é um polissacarídeo constituído de cadeia longa de N-acetilglicosamina, insolúvel em água e córnea. A parede celular dos fungos filamentosos apresentam quitina na proporção de 10 a 20%. Essas estruturas suportam grandes pressões e, portanto, tornam-se responsáveis pela integridade da parede celular. Quando a síntese da quitina é interrompida, a parede celular torna-se desorganizada e a célula fúngica sofre deformações e instabilidade osmótica (BOWMANN; FREE, 2006).

O aumento no teor de fibras no meio cultivado potencializa sua utilização na fabricação de ração animal tornando-se uma fonte complementar de fibras e proteínas (ARAÚJO et al. 2008).

Tabela 4.5. Variação da composição proximal do meio contendo resíduos de guavira pela ação do micro-organismo *L. ramosa*.

Tempo (dias)	Lipídios (%)*	Proteínas (%)*	Cinzas (%)*	Fibras (%)*	Carboidratos (%)
0	0,91 ± 0,05	4,13 ± 0,45	1,59 ± 0,16	44,74 ± 0,16	48,62
5	2,54 ± 0,15	4,59 ± 0,17	1,56 ± 0,10	45,85 ± 0,44	45,44
10	2,37 ± 0,01	4,66 ± 0,39	1,78 ± 0,13	48,43 ± 0,31	42,74
15	2,86 ± 0,18	4,68 ± 0,36	2,00 ± 0,22	53,14 ± 0,02	37,30
20	3,80 ± 0,35	4,51 ± 0,37	2,01 ± 0,09	52,11 ± 0,38	37,56
25	4,83 ± 0,11	5,25 ± 0,24	1,80 ± 0,17	54,15 ± 0,11	33,96
30	4,60 ± 0,35	7,89 ± 0,37	1,80 ± 0,05	50,82 ± 0,11	34,86
35	4,25 ± 0,43	8,36 ± 0,32	1,84 ± 0,18	53,59 ± 0,37	31,95
40	3,80 ± 0,27	7,76 ± 0,07	2,00 ± 0,06	52,58 ± 0,10	33,83

*Dados apresentados como média ± desvio padrão de triplicatas/amostra com base na matéria seca.

A umidade do meio regulada em 60% não alterou no decorrer bioprocessos, assim como relatado por Amorim (2011), no qual a umidade no cultivo de farelo de cacau por *Aspergillus niger* variou entre 57,78 e 60%.

Tabela 4.6. Variação da composição proximal do meio contendo resíduos de pequi pela ação do micro-organismo *L. ramosa*.

Tempo (dias)	Lipídios (%)*	Proteínas (%)*	Cinzas (%)*	Fibras (%)*	Carboidratos (%)
0	0,40 ± 0,05	4,78 ± 0,07	1,70 ± 0,16	17,47 ± 0,82	75,58
5	0,48 ± 0,04	5,45 ± 0,14	1,89 ± 0,21	20,28 ± 0,59	71,87
10	0,51 ± 0,10	5,71 ± 0,50	1,97 ± 0,04	24,95 ± 0,12	66,83
15	1,19 ± 0,17	6,16 ± 0,30	1,80 ± 0,02	25,98 ± 0,62	64,84
20	1,64 ± 0,05	7,90 ± 0,26	1,96 ± 0,01	30,06 ± 0,02	58,42
25	1,69 ± 0,07	8,33 ± 0,31	2,22 ± 0,24	29,86 ± 0,19	57,88
30	1,46 ± 0,11	12,43 ± 0,71	3,12 ± 0,37	36,18 ± 0,68	46,79
35	1,51 ± 0,06	10,05 ± 0,06	3,35 ± 0,20	36,85 ± 0,50	48,23
40	1,44 ± 0,01	8,82 ± 0,18	3,07 ± 0,33	40,27 ± 0,93	46,40

*Dados apresentados como média ± desvio padrão de triplicatas/amostra com base na matéria seca.

4.3.2 Determinações Microbiológicas de *Lichtheimia ramosa*

O crescimento do micro-organismo *L. ramosa* nos diferentes substratos pode ser observado na Figura 4.1. Na literatura há poucas informações sobre esse micro-organismo, porém, pelos dados obtidos percebe-se um ótimo crescimento e adaptação aos substratos compostos de resíduos de frutos.

O crescimento foi monitorado durante 40 dias. Após 5 dias de cultivo as hifas de *L. ramosa* haviam penetrado em todos os substratos de maneira homogênea. Nos substratos compostos de araticum e pequi o micro-organismo atingiu crescimento máximo em 25 dias, enquanto que bocaiuva e seriguêla em 35 dias e guavira em 30 dias. Após esse tempo, o micro-organismo entrava em fase de declínio.

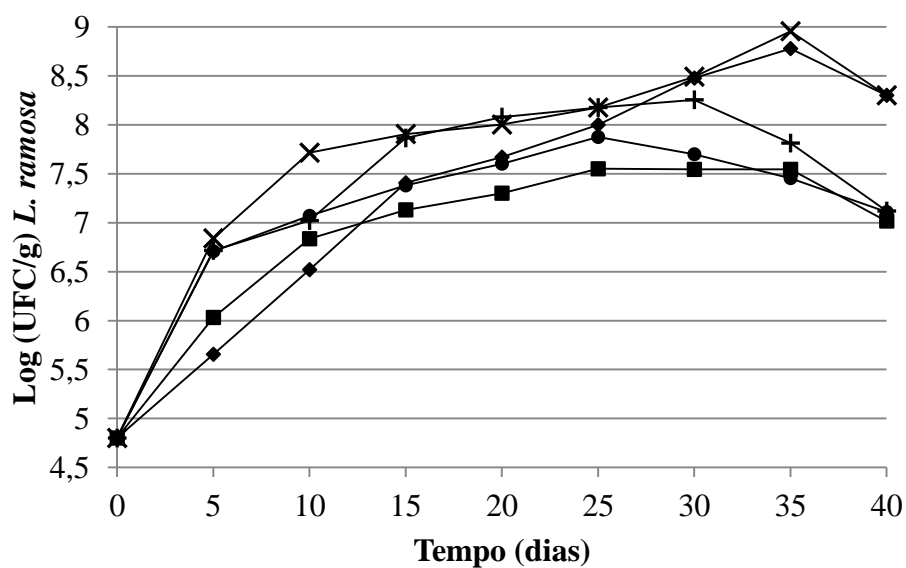


Figura 4.1. Cinética de crescimento do micro-organismo *Lichtheimia ramosa* em função nos substratos bocaiuva (◆), seriguela (X), araticum (●), guavira (+) e pequi (■) e do tempo de cultivo.

No que tange a contagem de mesófilos e psicrotrófilos não foi detectada a presença destes micro-organismos. Com relação ao não crescimento de micro-organismos mesófilos isto pode estar ligado à umidade de 60%, que não favorece seu crescimento (SILVA et al. 2008a) e a rápida colonização dos micro-organismo nos substrato inibindo o crescimento bacteriano, característica marcante da Classe Zigomicetos como reportado por Silva (2010).

4.3.3 Análises Enzimáticas

A Figura 4.2 apresenta os resultados para a análise de produção de enzimas lipásicas no produto fermentado.

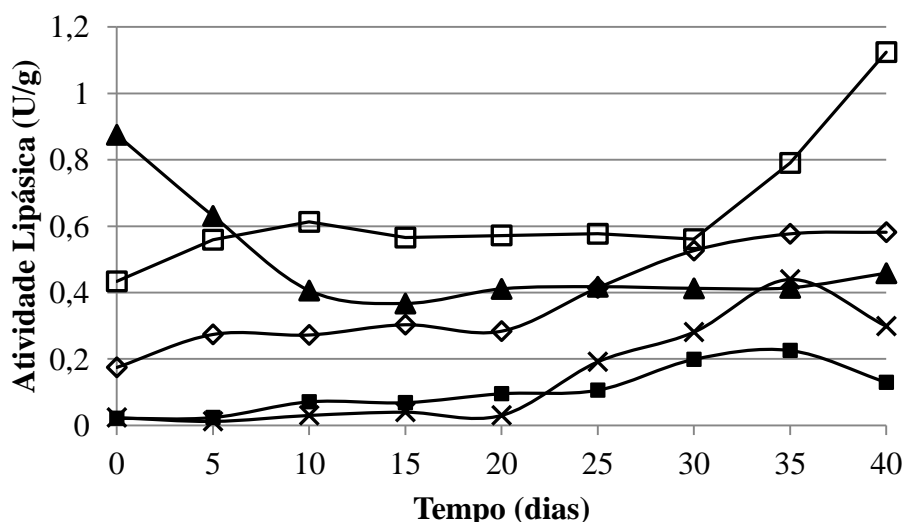


Figura 4.2. Atividade lipásica do produto fermentado nos diferentes substratos em função do tempo de cultivo. Bocaiúva (■), seriguela (x), araticum (◇), guavira (□) e pequi (▲).

No BES realizado com resíduos de frutos do cerrado pode-se observar a produção de lipase, com exceção no substrato composto de resíduos de pequi, em que a atividade diminuiu. Em nenhum dos substratos a produção foi expressiva, porém o substrato composto de resíduos de guavira apresentou o melhor resultado (1,12 U/g), seguido de araticum (0,58 U/g), seriguela (0,41 U/g) e bocaiuva (0,21 U/g).

As diferenças na produção de lipases estão associadas à composição do substrato, uma vez que o substrato composto de resíduos de guavira foi o que obteve maior incremento lipídico durante o cultivo (0,91% a 4,60%) (Tabela 4.5), alcançado no 30º dia, período esse em que ocorreu o início da produção de lipase. A partir do 30º dia de cultivo com substrato seriguela observa-se também que o consumo de carboidratos torna-se estável e o teor lipídios começa a diminuir de 4,60% até 3,80% (Tabela 4.5). Isso indica que o micro-organismo passou a utilizar os lipídios como fonte de carbono e não os carboidratos.

O mesmo efeito pode ser observado nos substratos de bocaiuva e seriguela, pois a indução da produção de lipases aconteceu após consumo de carboidratos tornar-se estável e o teor lipídios diminuir (Tabelas 4.2 e 4.3), porém nesses resíduos isso ocorreu após o 25º dia de cultivo.

Amorim (2011) reporta a máxima atividade lipásica de 11,67 U/g em 48h de fermentação com o fungo *Aspergillus niger*, utilizando como substrato farelo de cacau suplementado com óleo de oliva. Gombert et al. (1999) utilizando resíduos da indústria de óleo de babaçu com o micro-organismo *Penicillium restrictum* via BES enriquecido com 2% de óleo de oliva obteve 30,3 U/g de atividade lipásica.

A produção de lipases por micro-organismos e a presença de indutores têm sido intensivamente estudada para o aumento da atividade da enzima (Amorim, 2011). Confrontando os resultados obtidos nesse trabalho com os citados verifica-se que a suplementação com algum tipo de óleo aumenta a atividade lipásica. Rao et al. (1993) verificaram em seu estudo que o conteúdo de óleo é uma variável importante que afeta o rendimento de lipase, comportando-se como indutor para a produção de enzimas.

Neste contexto, a baixa atividade lipásica encontrada nos resultados apresentados, pode estar relacionada com a ausência de indutores no substrato em estudo, pois a utilização destes pode contribuir para que ocorra uma melhor expressão da enzima, já que o micro-organismo se mostrou capaz de produzi-lá nos substratos analisados.

Como verificado na Figura 4.2 os substratos com resíduos de frutos de araticum, guavira e pequi já apresentavam atividade lipásica no tempo inicial, isso mostra que esses frutos já possuem atividade na sua estrutura.

Em todos os substratos em que houve produção de enzimas, estas foram produzidas a partir do 20º dia de cultivo, sendo similar ao tempo em que a contagem de *L. ramosa* diminuiu, assim como reportado por Chartrain et al. (1993), no qual a produção de lipase pela bactéria *Pseudomonas aeruginosa* não foi associada ao crescimento, pois a produção de lipase foi induzida apenas no final da fase exponencial e alcançou um pico no final da fase estacionária.

4.4 CONCLUSÃO

Resíduos de frutos do cerrado foram utilizados com sucesso para o enriquecimento proteico via BES. Os resultados obtidos mostraram uma alta variação proteica em todos os substratos cultivados com *L. ramosa*. Além disso, o micro-organismo *L. ramosa* apresentou-se capaz da produção de

lipases, mesmo sem a adição de indutores. Outra característica importante desse micro-organismo, praticamente desconhecido na literatura, foi que ele mostrou-se bastante competitivo em relação a outras espécies tradicionalmente estudadas em BES devido a sua boa adaptação, rápido crescimento e alta conversão de resíduos em proteína nos substratos empregados.

4.5 REFERÊNCIAS

ABU, O. A.; TEWE, O. O.; LOSEL, D. M.; ONIFADE, A. A. Changes in lipid, fatty acids and protein composition of sweet potato (*Ipomoea batatas*) after solid-state fungal fermentation. **Bioresource Technology**, v. 72, p. 189-192, 2000.

AGUIAR FILHO, J. M. M. **Análise enzimática de fungos lignocelulíticos cultivados em vinhaça e bagaço de cana-de-açúcar**. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, Brasil, 2008.

AMORIM, G. M. **Fermentação de farelo de cacau por *Aspergillus niger* para obtenção de lipase e biomassa para alimentação animal**. Dissertação de Mestrado, Bahia, Brasil, 2011.

ARAÚJO, L. F.; SILVA, F. L. H.; BRITO, E. A.; OLIVEIRA JÚNIOR, S. SANTOS, E. S. Enriquecimento proteico da palma forrageira com *Saccharomyces cerevisiae* para alimentação de ruminantes. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n.2, p.401-407, 2008.

AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, **Official methods of analysis**. 15^o ed. Washington: AOAC, 1990.

BARBOSA, D. C. A.; ALVES, J. L. H.; SEVERINO DE MONTE PRAZERES, S. M.; PAIVA, A. M. A. Dados fenológicos de 10 espécies arbóreas de uma área de caatinga (Alagoinha-PE). **Acta Botânica Brasileira**, v. 3, n. 2, p. 109-117, 1989.

BORLAUG, N. E. Feeding a world of 10 billion people: the miracle ahead. In: R. Bailey (ed.). **Global warming and other eco-myths**. Competitive Enterprise Institute, Roseville, EUA, p. 29-60, 2002.

BOWMAN N, S.; M.; FREE , S. J. The structure and synthesis of the fungal cell wall. **BioEssays**, Cambridge, v. 28, n. 8, p. 799-808, 2006.

BUSSAMARA, R.; FUENTEFRIA, A. M.; OLIVEIRA, E. S. DE; BROETTO, L.; SIMCIKOVA, M.; VALENTE, P.; SCHRANK, A.; VAINSTEIN, M. H. Isolation of a lipase-secreting yeast for enzyme production in a pilot-plant scale batch fermentation. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 268-275, 2010.

CAMMAROTA, M. C.; FREIRE, D. M. G. A review on hydrolytic enzymes in the treatment of wastewater with high oil and grease content. **Bioresource Technology**, v. 97, p. 2195-2210, 2006.

CARVALHO, P. O.; CALAFATTI, S. A.; MARASSI, M.; SILVA, D. M.; CONTESENI, F. J.; BIZACO, R.; MACEDO, G. A. Potential of enantioselective biocatalysis by microbial lipases. **Química Nova**, v. 28, n. 4, p. 614-621, 2005.

CASTILHO, L. R.; MITCHELL, D. A.; FREIRE, D. M. G. Production of solid-state fermentation. **Bioresource Technology**, v. 100, p. 5996-6009, 2009.

CAVALCANTI, E. D. C.; GUTARRA, M. L. E.; FREIRE, D. M. G.; CASTILHO, L. dos R.; JÚNIOR, G. L. S. Lipase production by solid-state fermentation in fixed-bed bioreactors. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.48, p. 79-84, 2005.

CHARTRAIN, M.; MARCIN, C.; KATZ, L.; SALMON, P.; BRIX, T.; BUCKLAND, B.; GREASHAM, R. Enhancement of lipase production during fedbatch cultivation of *Pseudomonas aeruginosa* MB5001. **Journal of Fermentation and Bioengineering**, v. 76, p. 487-492, 1993.

COUTO, S. R.; SANROMÁN, M. A. Application of solid-state fermentation to ligninolytic enzyme production. **Biochemical Engineering Journal**, v. 22, p. 211-219, 2005.

DEL BIANCHI, V. L.; MORAES, I. O.; CAPALBO, D. M. F. In: SCHMIDELL, W.; LIMA, U. DE A. L.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. **Biotecnologia Industrial: Engenharia Bioquímica**, Editora Blücher, São Paulo, Brasil, v. 2, p. 247-270, 2001.

FONSECA, G. G.; GANDRA, E. A.; SCLOWITZ, L. F.; ANTUNES, A. P. C.; COSTA, J. A. V. Protein enrichment and digestibility of soft rush (*Juncus effusus*) and rice residues using edible mushrooms *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju*. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 25, p. 449-456, 2009.

FRANCO, M. N. **Produção de celulases por actinomicetos, em resíduos agroindustriais, visando à obtenção de bioetanol**. 70p. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil, 2009.

FREIRE, D. M. G.; CASTILHO, L. R. Lipases produzidas por fermentação submersa e em meio sólido. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 81, p. 48-56, 2000.

FROMAGE, M.; HOUZE, S.; MIEGEVILLE, M.; THELLIER, M. Annales du Contrôle National de Qualité des Analyses de Biologie Médicale. **Annales Parasitologie** 09PAR1, 2009.

GHATORA, S. K.; CHADHA, B. S.; BADHAN, A. K.; SAINI, H. S.; BHAT, M. K. Identification and characterization of diverse xylanases from thermophilic and thermotolerant fungi. **Bioresources**, v. 1, n. 1, p. 18-33, 2006.

GODOY, M. G.; GUTARRA, M. L. E.; MACIEL, F. M.; FELIX, S. P.; BEVILAQUA, J. V.; MACHADO, O. L. T.; FREIRE, D. M. G. Use of a low-cost methodology for biodetoxification of castor bean waste and lipase production. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 44, p. 317-322, 2009.

GOMBERT, A. K.; PINTO, A. L.; CASTILHO, L. R.; FREIRE, D. M. G. Lipase production by *Penicillium restrictum* in solid-state fermentation using babassu oil cake as substrate. **Process Biochemistry**, v. 35, p. 85-90, 1999.

GONÇALVES, F. A. G. **Produção de lipase extracelular por leveduras em cultivo submerso**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, Brasil, 2007.

GONÇALVES, F. A. **Bioprospecção de microrganismos produtores de celulasas e hemicelulasas e sua avaliação sobre a produção de etanol a partir de bagaço de cana-de-açúcar**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, Brasil, 2011.

HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ, B.; CÓRDOVA, J.; BÁRZANA, E.; FAVELATORRES, E. Effects of organic solvents on activity and stability of lipases produced by thermotolerant fungi in solid-state fermentation. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymology**, v. 61, p. 136-142, 2009.

HOFFMANN, K.; DISCHER, S.; VOIGT, K. Revision of the genus *Absidia* (Mucorales, Zygomycetes) based on physiological, phylogenetic, and morphological characters; thermotolerant *Absidia* spp. form a coherent group, Mycocladiaceae fam. nov. **Mycological Research**, v. 111, p. 1169-1183, 2007.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. Coordenadores: Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea - São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, p. 1020. Versão eletrônica, 2008.

JIN, B.; YAN, X. Q.; YU, Q.; VAN LEEUWEN, J. H. A comprehensive pilot plant system for fungal biomass protein production and wastewater reclamation. **Advances in Environmental Research**, n. 6, p. 179-189, 2002.

KIRK, P. M.; CANNON, P. F.; DAVID, J. C.; STALPERS, J. A.; **Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi**, 9th edn., CABI Publishing, Wallingford, 2001.

LEITE, R. S. R.; BOCCHINI, D. A.; MARTINS, E. S.; Da-SILVA, D.; GOMES, E.; DA-SILVA, R. Production of cellulolytic and hemicellulolytic enzymes from *Aureobasidium pulluans* on solid state fermentation. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 137, p. 281-288, 2007.

LIU, Z.; ZHENMING, C.; WANG, L.; JING, L. Production, purification and characterization of an extracellular lipase from *Aureobasidium pullulans* HN2.3 with potential application for the hydrolysis of edible oils. **Biochemical Engineering Journal**, v. 40, p. 445-451, 2008.

MODA, E. M.; HORII, J.; SPOTO, M. H. F. Edible mushroom *Pleurotus sajor-caju* production on washed and supplemented sugarcane bagasse. **Scientia Agricola**, v. 62, p.127-132, 2005.

MOO-YOUNG, M.; MOREIRA, A. R.; TENGGERDY, R. P. Principles of solid-substrate fermentation. In: Smith, J.E., Berry, D.R., Kristiansen, B. (Eds.), **The Filamentous Fungi**, v. 4. Edward Arnold, London, p. 117-144, 1983.

NEVES, M. L. C.; SILVA, M. F.; SOUZA-MOTTA, C. M.; SPIER, M. R.; SOCCOL, C. R.; PORTO, T. S. P.; MOREIRA, K. A.; PORTO, A. L. F. *Lichtheimia blakesleeana* as a New Potencial Producer of Phytase and Xylanase. **Molecules**, v. 16, p. 4807-4817, 2011.

NIGAM, P.; SINGH, D. Processing of agricultural wastes in solid state fermentation of microbial protein. **Journal of Science and Industrial Research**, v. 55, p. 373-380, 1996.

OLIVEIRA, M. S.; FEDDERN, V.; KUPSKI, L.; CIPOLATTI, E. P.; BADIALE-FURLONG, E.; SOUZA-SOARES, L. A. Changes in lipid, fatty acids and phospholipids composition of whole rice bran after solid-state fungal fermentation. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 8335-8338, 2011.

RAIMBAULT, M.; GERMON, J. C. Procédés d'enrichissement en protéines de produits comestibles solides. **Patent B.F.**, v. 76, p. 677, 1976.

RAIMBAULT, M., REVAH, S., PINA, F., VILLALOBOS, P. Protein enrichment of cassava by solid state fermentation using molds isolated from traditional foods. **Journal of Fermentation and Bioengineering**, v. 63, p. 395-399, 1985.

RAO P. V.; JAYARAMAN, K.; LAKSHMANAN, C. M. Production of lipase by *Candida rugosa* in solid state fermentation. 1: Determination of significant process variables. **Process Biochemistry**, v. 28, p.385-389, 1993.

ROBINSON, T.; NIGAM, P. Bioreactor design for protein enrichment of agricultural residues by solid state fermentation. **Biochemical Engineering Journal**, n. 13 p. 197-203, 2003.

RODRIGUES, B. S. **Resíduos da agroindústria como fonte de fibras para a elaboração de pães integrais**. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, Brasil, 2010.

RODRIGUES, S. R.; NANTES, L. R.; DE-SOUZA, S. R.; ALFREDO RAUL ABOT, A. R.; UCHÔA-FERNANDES, M. A. Moscas frugívoras (Diptera, Tephritoidea) coletadas em Aquidauana, MS. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 50, n. 1, p. 131-134, 2006.

SARMA, P. U. Fungal biochemistry and applications. **Biochemistry of the Microbes**, 2006.

SILVA, A. M. **Produção de quitosana por *Absidia corymbifera* em meio de baixo custo e aplicação na descoloração de efluente industrial.** Dissertação de Mestrado. Universidade Católica de Pernambuco. Recife, Brasil, 2010.

SILVA, C. F.; BATISTA, L. R.; SCHWAN, R. F. Incidence and distribution of filamentous fungi during fermentation, drying and storage of coffee (*Coffea arabica* L.) beans. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 39, p. 521-526, 2008a.

SILVA, M. R.; LACERDA, D. B. C. L.; SANTOS, G. G.; MARTINS, D. M. O. Caracterização química de frutos nativos do cerrado. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.6, p.1790-1793, 2008b.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos.** Editora: Livraria Varela, SP, Brasil, 1997.

SILVA, W. O. B.; MITIDIÉRI, S.; SCHRANK, A.; VAINSTEIN, M. H. Production and extraction of an extracellular lipase from the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. **Process Biochemistry**, v. 40, p. 321-326, 2005.

SILVEIRA, C. M.; FURLONG, E. B. Caracterização de compostos nitrogenados presentes em farelos fermentados em estado sólido. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 4, p. 805-811, 2007.

SILVEIRA, C. M.; OLIVEIRA, M. S.; BADIALE-FURLONG, E. Lipid content and fatty acid profile of defatted rice bran and wheat bran submitted to solid state fermentation by *Aspergillus oryzae*. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 28, n. 1, p. 133-140, 2010.

SUN, S.Y.; XU, Y.; WANG, D. Novel minor lipase from *Rhizopus chinensis* during solid-state fermentation: biochemical characterization and its esterification potential for ester synthesis. **Bioresource Technology**, v. 100, p. 2607-2612, 2009.

VERA, R.; NAVES, R. V.; DO-NASCIMENTO, J. L.; CHAVES, L. J.; LEANDRO, W. M.; DE-SOUZA, E. R. B. Caracterização física de frutos do pequi (*Caryocar brasiliense* camb.) no estado de Goiás. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.35 n. 2, p. 71-79, 2005.

YANG, S. S. Protein enrichment of sweet potato residue with amylolytic yeasts by solid-state fermentation. **Biotechnology and Bioengineering**, v.32, p.886-890, 1998.

YANG, S. S.; JANG, H. D.; LIEW, C. M.; PREEZ, J. C. Du Protein enrichment of sweet potato residue by solid state cultivation with mono-and co-cultures of amylolytic fungi. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, n. 9, p. 258-264, 1993.

ZUSMAN, I.; REIFEN, R.; LIVNI, O.; SMIRNOFF, P.; GUREVICH, P.; SANDLER, B.; NYSKA, A.; GAL, R.; TENDLER, Y.; MADAR, Z. Role of apoptosis, proliferating cell nuclear antigen and P53 protein in chemically induced colon cancer in rats fed corncob fiber treated with the fungus *Pleurotus ostreatus*. **Anticancer Research**, v. 17, p. 2105-2113, 1997.

5 CONCLUSÃO GERAL

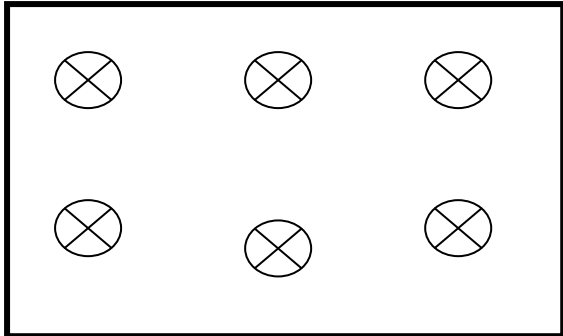
Os resíduos de frutos do cerrado apresentaram-se como ótimo substrato para o desenvolvimento de *L. ramosa* via BES. Esse micro-organismo, pouco descrita na literatura, apresentou rápida colonização e demonstrou potencial para produção de enzimas e enriquecimento proteico, valorizando resíduos que poderiam ser descartados no ambiente.

Entre as enzimas produzidas as xilanases foram as que mais se destacaram com resultados superiores ao observado na literatura, utilizando resíduos e o micro-organismo *L. ramosa*.

Cultivos com *L. ramosa* foram excelentes para obtenção de enriquecimento proteico, com valores expressivos. Além disso, *L. ramosa* foi capaz de produzir lipases, valores menores que os presentes na literatura, porém utilizando resíduos e sem suplementação.

ANEXOS

Anexo A



Anexo A. Esquema da disposição do inóculo na bandeja.

Anexo B



Anexo B. Cultivo com 5 dias de BES.