

35º Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras

FUNGOS ISOLADOS DO CAFÉ AVALIADOS QUANTO A PRODUÇÃO DE LIPASES

FERNANDES, A. P. (Doutoranda em Ciência dos Alimentos – DCA/UFLA, e-mail: anynhafbio04@yahoo.com.br); CHALFOUN, S. M. (Pesquisadora da Empresa Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais); BATISTA, L. R. (Professor Adjunto do Departamento de Ciência dos Alimentos – DCA/UFLA); RUOCO, C. E. (Aluno de Graduação em Agronomia - UFLA) FERNANDES, M. (Professor do Instituto Federal Goiano, Campus de Urutaí, GO)

As lipases (triacilglicerol acil hidrolases, E.C. 3.1.1.3) compreendem um grupo de enzimas hidrolíticas que atuam na interface orgânica-aquosa, catalisando a hidrólise de ligações éster-carboxílicas presentes em acilglicéóis para liberar ácidos orgânicos e glicerol (Ionita et al., 1997). A função biológica das lipases é hidrolisar triacilglicéóis para formar ácidos graxos livres, di, mono acilglicéóis e glicerol.

São produzidas por animais, plantas e microrganismos. Comercialmente, as lipases são obtidas de microrganismos que produzem uma grande variedade de lipases extracelulares (Sharma et al., 2001); uma vez que têm alta velocidade de síntese, alto rendimento de conversão de substrato em produtos, grande versatilidade na manipulação ambiental e genética de sua capacidade produtiva (Illanes, 1994). Os microrganismos, possuindo as características essenciais para que possam ser usados em processos biotecnológicos, podem ser isolados, purificados e selecionados a partir de fontes naturais que podem ser o solo, a água, plantas e animais.

Fungos de diferentes gêneros têm sido testados como bons produtores de lipases; entre eles podemos citar: *Aspergillus oryzae*, *A. niger*, *Mucor javanicus*, *Rhizopus niveus*, *R. oryzae*, *Penicillium camemberti*, *P. roqueforti* e a levedura *Candida rugosa*, que estão sendo comercializados para o processamento de óleos, gordura e queijos etc (Jaeger et al., 1999).

Este estudo foi realizado com o objetivo de avaliar a capacidade e o potencial dos fungos isolados do café quanto à produção de enzimas extracelulares como as lipases.

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Microbiologia do EcoCentro/EPAMIG, situado no Campus da Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. Os fungos foram cedidos pela Micoteca da EPAMIG, e os outros foram isolados de frutos do café através do método de *Bloter test*.

A identificação dos fungos foi realizada com base em exames micro e macroscópicos das colônias baseados em literaturas específicas. Para a determinação da atividade enzimática de lipases utilizou-se a metodologia descrita por Sierra (1957). As placas de Petri contendo o meio específico para lipase com as colônias foram incubadas em BOD 25°C durante 5 dias. A determinação enzimática foi expressa como índice enzimático (IE), mediante a relação do diâmetro médio do halo de degradação e o diâmetro médio da colônia (Hankin e Anagnostakis, 1975).

O experimento foi conduzido em um delineamento inteiramente casualizado (DIC). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, utilizando o software SISVAR (Ferreira, 2000). As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Resultados e conclusões

Para a avaliação do potencial de produção de lipases foram testados 41 isolados fúngicos, cujos resultados encontram-se apresentados na Tabela 1.

TABELA 1 Produção de lipases por fungos isolados do café, avaliados pelo índice enzimático (IE)

Código	Origem	Gênero	IE
(0032M)	Micoteca - Café	<i>C. cladosporioides</i>	3,30 a
(0030M)	Micoteca - Café	<i>A. versicolor</i>	2,82 b
(0031M)	Micoteca - Café	<i>A. versicolor</i>	2,49 c
(0004M)	Micoteca - Café	<i>A. carbonarius</i>	2,06 d
(0052M)	Micoteca - Café	<i>P. commune</i>	2,04 d
(0003M)	Micoteca - Café	<i>A. carbonarius</i>	2,00 d
(0009M)	Micoteca - Café	<i>A. foetidus</i>	1,80 e
(0011A)	Café	<i>A. foetidus</i>	1,78 e
(0016A)	Café	<i>A. niger</i>	1,78 e
(0014M)	Micoteca - Café	<i>A. niger</i>	1,70 e
(0039M)	Micoteca - Café	<i>F. lateritium</i>	1,66 e
(0063M)	Micoteca - Café	<i>P. solitum</i>	1,62 e
0015M)	Micoteca - Café	<i>A. niger</i>	1,55 f
(0051M)	Micoteca - Café	<i>P. citrinum</i>	1,46 f
(0057M)	Micoteca - Café	<i>P. expansum</i>	1,46 f
(0047M)	Micoteca - Café	<i>P. brevicompactum</i>	1,45 f
(0054M)	Micoteca - Café	<i>P. corylophilum</i>	1,42 f
(0025M)	Micoteca - Café	<i>A. sulphureus</i>	1,40 f
(0021M)	Micoteca - Café	<i>A. sclerotiorum</i>	1,40 f
(0002M)	Micoteca - Café	<i>A. auricomus</i>	1,38 f
(0024M)	Micoteca - Café	<i>A. sulphureus</i>	1,34 f

... (Cont.)...

TABELA 1,

Cont.

(0060M)	Micoteca - Café	<i>P. roqueforti</i>	1,32 f
(0050M)	Micoteca - Café	<i>P. citrinum</i>	1,29 f
(0070M)	Micoteca - Café	<i>Talaromyces sp.</i>	1,27 f
(0067M)	Micoteca - Café	<i>P. verrucosum</i>	1,25 f
(0049M)	Micoteca - Café	<i>P. citrinum</i>	1,20 f
(0026M)	Micoteca - Café	<i>A. sulphureus</i>	1,16 f
(0019M)	Micoteca - Café	<i>A. ochraceus</i>	1,14 f
(0001A)	Café	<i>A. auricomus</i>	1,07 f
(0023A)	Café	<i>A. sulphureus</i>	1,07 f
(0027A)	Café	<i>A. tamaritii</i>	1,07 f
(0006M)	Micoteca - Café	<i>A. dimorphicus</i>	0,89 f
(0005M)	Micoteca - Café	<i>A. clavatus Strict sensu</i>	0,00 g
(0007M)	Micoteca - Café	<i>A. dimorphicus</i>	0,00 g
(0040A)	Café	<i>Fusarium oxysporum</i>	0,00 g
(0022A)	Café	<i>A. sulphureus</i>	0,00 g
(0071M)	Micoteca - Café	<i>Talaromyces sp.</i>	0,00 g
(0028M)	Micoteca - Café	<i>A. tamaritii</i>	0,00 g
(0013M)	Micoteca - Café	<i>A. melleus</i>	0,00 g
(0012M)	Micoteca - Café	<i>A. lanosus</i>	0,00 g
(0044M)	Micoteca - Café	<i>F. verticillioides</i>	0,00 g

**CV(%) = 14,94

* Médias seguidas por letras iguais não diferem estatisticamente, pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

** CV= Coeficiente de variação, mede a dispersão dos dados em relação à média aritmética, quanto menor melhor é a precisão dos dados.

Conforme resultados da Tabela 1, pode-se observar que os isolados testados apresentaram uma ampla variação quanto ao potencial de produção da enzima, sendo que, destacaram-se os isolados *C. cladosporioides* (0032M) IE = 3,30; *A. versicolor* (0030M) IE = 2,82; *A. versicolor* (0031M) IE = 2,49; *A. carbonarius* (0004M) IE = 2,06; *P. commune* (0052M) IE = 2,04; *A. carbonarius* (0003M) IE = 2,00; como isolados potenciais para a produção de lipases.

Os isolados *A. foetidus* (0009M), (0011A) e *A. niger* (0016A), embora não tenham atingido o índice enzimático recomendado, obtiveram um potencial intermediário, pois atingiram índice enzimático próximo a 2,00; enquanto que os demais se agruparam em uma produção enzimática inferior.

Do total de fungos testados quanto a produção da enzima lipolítica 14,63% apresentaram potencial enzimático $\geq 2,00$. O isolado *C. cladosporioides* se destacou entre os demais isolados, podendo ser utilizado em ensaios futuros, na utilização de seu potencial enzimático.

As espécies *A. clavatus Strictu sensu* (0005M), *A. dimorphicus* (0007M), *F. oxysporum* (0040A), *A. sulphureus* (0022A), *Talaromyces* sp. (0071M), *A. tamarii* (0028M), *A. melleus* (0013M), *A. lanosus* (0012M), *F. verticillioides* (0044M) cresceram no meio de cultura específico para lipases, porém não produziram halo de degradação. Sugere-se que estas espécies tenham produzido pouca quantidade de enzima, o suficiente apenas para o seu desenvolvimento no meio de cultura.

Apesar das associações de fungos na cafeicultura serem considerados prejudiciais, alguns fungos podem ser utilizados como fonte de enzima de interesse biotecnológico. Verifica-se no presente estudo o fungo identificado no grupo de índice enzimático mais elevado, é justamente um fungo de interesse para a preservação da qualidade do café sendo, portanto objeto de interesse em sua manutenção e mesmo introdução nas áreas cafeeiras.