

UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS

FACULDADE DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E AMBIENTAIS

CURSO DE BIOTECNOLOGIA

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA DE AMILASE PRODUZIDA POR *Fusarium*
verticillioides

JOÃO PAULO MARQUES LARA

DOURADOS-MS

2020

JOÃO PAULO MARQUES LARA

CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA DE AMILASE PRODUZIDA POR *Fusarium
verticillioides*

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado como requisito do curso de Biotecnologia para obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia da Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais na Universidade Federal Da Grande Dourados.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Simões Ribeiro Leite

DOURADOS - MS

2020

FICHA CATALOGRAFICA

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

L318c Lara, João Paulo Marques

CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA DE AMILASE PRODUZIDA POR *Fusarium verticillioides* [recurso eletrônico] / João Paulo Marques Lara. -- 2020.
Arquivo em formato pdf.

Orientador: Rodrigo Simões Ribeiro Leite.

TCC (Graduação em Biotecnologia)-Universidade Federal da Grande Dourados, 2020.

Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:

<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

1. Enzimas amilolíticas. 2. Enzimas Industriais. 3. Cultivo em Estado Sólido.. I. Leite, Rodrigo Simões Ribeiro. II. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.

JOÃO PAULO MARQUES LARA

**TÍTULO: CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA DE AMILASE PRODUZIDA
POR *Fusarium verticillioides***

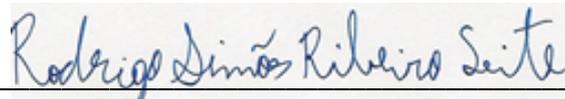
Trabalho de Conclusão de Curso aprovado pela banca examinadora como requisito parcial necessário para obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia, da Universidade Federal da Grande Dourados.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Simões Ribeiro Leite

Área de concentração: Enzimologia

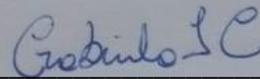
Aprovado em: 21 de agosto de 2020

BANCA EXAMINADORA



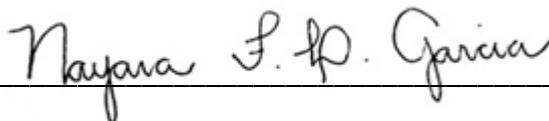
Prof. Dr. Rodrigo Simões Ribeiro Leite

Presidente



Dr.^a. Gabriela Finoto Cavalheiro

Membro



Dr.^a. Nayara Fernanda Lisbôa Garcia

Membro

AGRADECIMENTOS

O sentimento de gratidão é para com várias pessoas e entidades que participaram positivamente e tiveram suas colaborações em minha passagem pela academia, entretanto gostaria de destacar algumas figuras que foram diretamente essenciais para a conclusão deste trabalho e ciclo. Iniciando por meus pais Lucia Marques e Edilberto Dyna Lara que foram meus alicerces desde o prelúdio deste capítulo. Também aos colegas de laboratório, em especial a Gabriela Ulian que foi mentora nos trabalhos de bancada e responsável por atuar frente ao trabalho de pesquisa. Ao meu orientador Rodrigo Leite pois além de ser um grande profissional atuando em pesquisa e em sala de aula, foi extremamente paciente com minhas dificuldades. Por fim a minha segunda família criada pela convivência durante anos Evelyn Rosa, Luis Guilherme, Natã Miranda, Markus Eberhart, e Rafaela Tambasco, que mesmo de forma sutil em seu companheirismo compartilharam forças e apoio nesta jornada. À diversas pessoas que possa não ter mencionado ou que atuaram indiretamente em algum momento de forma benéfica, deixo meu sincero muito obrigado.

“Para cada mil homens dedicados a cortar as folhas do mal, há apenas um atacando as raízes.”

(Henry David Thoreau)

RESUMO

Amilases são enzimas utilizadas em diversos processos industriais, como por exemplo na produção de alimentos, bebidas, tecidos, biocombustíveis, dentre outros. O presente trabalho teve a finalidade de caracterizar bioquimicamente a amilase produzida pelo fungo *Fusarium verticillioides*. A enzima apresentou maior atividade catalítica em pH 5,0 e a temperatura ótima foi obtida a 50°C. A amilase manteve sua atividade por 24 horas em pH 5,0-7,0. Com relação a termoestabilidade, a enzima foi estável por 1 hora a 45°C, quando a temperatura foi elevada para 50°C, cerca de 80% da atividade original foi recuperada. O extrato enzimático produzido por *F. verticillioides* apresentou potencial para hidrolisar amidos provenientes de diferentes fontes botânicas, o que favorece sua aplicação em processos industriais distintos.

PALAVRAS CHAVE: Enzimas amilolíticas; Enzimas Industriais; Cultivo em Estado Sólido.

ABSTRACT

Amylase is an enzyme used in several industrial processes, and its catalytic properties contribute to manufacturing food, drinks, fabrics, biofuel, among others. The present work has the finality to characterize biochemically the amylase produced by *Fusarium verticillioides* fungus. The enzyme presented great catalytic activity in pH 5,0 and the great temperature was obtained to 50°C. The amylase maintained its activity for 24 hours in pH 5,0-7,0. In relation to thermostability, the enzyme was stable for 1 hour to 45°C, when the temperature was raised up to 50°C, about 80% of your original activity was recovered. The enzymatic extract produced by *F. verticillioides* presented potential to hydrolyze starches from different botanical sources, what favors your application in different industrial processes.

KEY WORDS: Amylolytic enzymes; Industrial enzymes; Solid State Cultivation.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	10
MATERIAL E MÉTODOS.....	12
Microrganismo.....	12
Inóculo	12
Cultivo em estado sólido para produção de amilase.....	12
Extração das enzimas.....	12
Determinação da atividade enzimática	13
Efeito do pH e temperatura sobre a atividade amilolítica.....	13
Potencial catalítico para amidos de diferentes fontes vegetais	13
RESULTADOS E DISCUSSÃO	14
Efeito do pH e temperatura sobre a atividade amilolítica.....	14
Potencial de hidrólise de amidos obtidos de diferentes fontes botânicas	15
CONCLUSÃO.....	16
REFERÊNCIAS	17

INTRODUÇÃO

Diversas espécies vegetais produzem amido com a função de armazenamento energético, de tal forma que esta molécula se faz abundante na natureza (ZEEMAN et al., 2004; SANDHU; SINGH; KAUR, 2004). O amido é basicamente formado por monômeros de glicose, compondo polímeros lineares e ramificados. A denominação das cadeias lineares é amilose, e seus monômeros são conectados por ligações α (1 \rightarrow 4), enquanto os pontos de ramificações (amilopectinas) são unidos por ligações α (1 \rightarrow 6) (WANG; WHITE, 1994; VANDEPUTTE et al., 2003).

A utilização do amido na indústria pode ocorrer em sua forma natural, ou sendo processado por catalisadores químicos ou enzimáticos. O método químico de hidrólise do amido apresenta desvantagens como: falta de especificidade, necessidade de temperatura e pressão elevadas. Esses problemas podem ser contornados pelo emprego de tecnologia enzimática, uma vez que as enzimas dispensam tais condições de temperatura e pressão, apresentam alta especificidade ao substrato e maior velocidade catalítica (KRISHNA, 2011 apud SUNDARAM; MURTHY, 2014, p. 166). A hidrólise do amido possibilita a produção de por exemplo: xaropes de glicose e maltose, maltodextrinas e ciclodextrinas (DE BAERE, 1999; SUNDARRAM; MURTHY, 2014).

As amilases são classificadas de acordo com o sítio ativo da molécula de amido que ela se ligara, desta forma são classificadas em três principais grupos com base em sua atividade catalítica. O primeiro grupo é denominado endoamilases, sendo estas as enzimas que clivam as ligações α (1 \rightarrow 4), presentes na estrutura interna da molécula do amido, isto é, nos componentes lineares da amilopectina e da amilose, sua atividade gera principalmente oligossacarídeos de tamanhos distintos. A α -amilase é a principal representante deste grupo. O segundo grupo é o das exoamilases, enzimas com atividade catalítica dirigida pela extremidade não redutora do polímero, catalisando de forma sequencial as ligações glicosídicas da molécula. Seus principais produtos são a glicose e a maltose. Exemplos de exoamilases são as β -amilases, α -glucosidases e glucoamilases. O terceiro grupo é formado pelas amilases desramificantes, que se distinguem das demais pois clivam ligações α (1 \rightarrow 6), presentes nas conexões das ramificações com a molécula linear do amido. As pululanases e isoamilases são enzimas que possuem atividade enzimática com essa característica (VAN DER MAAREL et al., 2002).

As enzimas com atividade amilolítica se tornaram altamente relevantes no processamento industrial de amido, estando presentes em processos alimentícios,

fermentativos, têxtil e na indústria de papel (PANDEY et al., 2000). Enzimas que podem trabalhar em condições de temperaturas elevadas são desejáveis na indústria, considerando que muitos processos industriais demandam uso de temperaturas elevadas (RAY; NANDA, 1996). Temperaturas altas são requeridas pela indústria pois geralmente melhoram a solubilidade das substâncias orgânicas, as taxas de reatividade e causam a redução da viscosidade do substrato, além de diminuir o risco de contaminação por microrganismos mesófilos (MCCARTHY et al., 2005; HAKI; RAKSHIT, 2003).

Algo impactante no custo da produção enzimática é a formulação dos meios de cultivo microbiológico, considerando que 30 a 40% do custo da produção enzimática se deve a composição do meio de cultura (JOO; CHANG, 2005). Quando comparada à técnica de cultivo submerso, o cultivo em estado sólido apresenta dentre outras características, custo baixo (MITCHELL et al., 2006). O principal fator que impacta em seu custo é a possibilidade de utilizar subprodutos e rejeitos agroindustriais no processo (LEAL et al., 2002; PANDEY, 2003).

Os fungos filamentosos são microrganismos mais adaptados para o cultivo em estado sólido, pois possuem hifas em sua estrutura que facilitam a colonização do substrato, apresentam tolerância à baixa atividade de água e à alta pressão osmótica, produzem maior quantidade de enzimas comparados a outros organismos e secretam enzimas para o meio extracelular, tais características tendem reduzir o custo de produção (DURAND, 2003; KRISHNA, 2008). Além de que algumas espécies fúngicas são capazes de produzir enzimas termoestáveis, fugindo da tendência dos demais organismos eucarióticos (GOMES et al., 2007).

Diante das informações citadas sobre as vantagens do uso de fungos filamentosos em processos de cultivo em estado sólido, visando a produção de enzimas industriais, o presente trabalho teve como objetivo determinar as características bioquímicas das enzimas amilolíticas produzidas pelo fungo *Fusarium verticillioides*.

MATERIAL E MÉTODOS

Microrganismo

O fungo filamentosso mesofílico *Fusarium verticillioides* foi isolado de amostras de solo provenientes do Pantanal Sul-Mato-Grossense, município Miranda-MS (S 20°12'09,1" WO 56°28'46,6"). A identificação taxonômica da cepa fúngica utilizada no presente trabalho foi realizada pela Micoteca URM da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE.

Inóculo

O fungo filamentosso *F. verticillioides* foi cultivado por 96 horas a 28°C em frascos Erlenmeyers de 250 mL contendo 40 mL do meio Ágar Sabourad Dextrose. A suspensão do microrganismo foi obtida pela raspagem suave da superfície do meio de cultura empregando 25 mL de solução nutriente (0,1% de sulfato de amônio, 0,1% de sulfato de magnésio hepta-hidratado e 0,1% de nitrato de amônio m/v). A inoculação do microrganismo em farelo de trigo se deu pela transferência de 5mL dessa suspensão (OLIVEIRA et al., 2016).

Cultivo em estado sólido para produção de amilase

Para produção de enzimas amilolíticas o fungo *F. verticillioides* foi cultivado em frascos Erlenmeyers de 250 mL contendo 5g de farelo de trigo umedecido com solução nutriente (descrita no item anterior), mantido por 72 horas a 30°C com umidade inicial de 70% (OLIVEIRA et al., 2016).

Extração das enzimas

Para a extração das enzimas produzidas no processo, adicionou-se 50mL de água destilada aos frascos Erlenmeyers contendo o substrato cultivado. Os frascos foram colocados em agitação por 1 hora a 150 rpm. O conteúdo dos frascos passou por uma filtração simples utilizando tecido sintético de nylon, em seguida a solução filtrada foi centrifugada por 5 minutos a 1.500 xg. Para os passos seguintes utilizou-se o sobrenadante, definido como extrato enzimático (CAVALHEIRO et al., 2017).

Determinação da atividade enzimática

A atividade de amilase foi mensurada pela adição de 0,1 mL do extrato enzimático em 0,9 mL de tampão de acetato de sódio 0,1 M, pH 4,5, contendo 1% de amido de milho. A reação ocorreu por 10 minutos a temperatura de 50°C. Posteriormente os açúcares redutores foram quantificados em espectrofotometria a 540 nm, pelo do método DNS ácido-3,5-dinitrosalicílico (MILLER, 1959). Uma unidade de atividade enzimática foi definida como a quantidade de enzima necessária para gerar 1 μmol de produto por minuto de reação.

Efeito do pH e temperatura sobre a atividade amilolítica

O pH ótimo foi determinado mensurando a atividade enzimática em diferentes valores de pH variando de 3,0 até pH 8,0. A temperatura ótima foi obtida pela dosagem da atividade enzimática em diferentes temperaturas em uma faixa entre 30 e 80°C, no respectivo valor de pH ótimo da enzima. A estabilidade da enzima ao pH foi avaliada incubando-a por 24 horas a 25°C em diferentes valores de pH. Os tampões utilizados foram McIlvaine 0,1M de pH 3,0 a 8,0, e Glicina – NaOH de 8,5 a pH 11. A termoestabilidade foi avaliada incubando a enzima por 1 hora em diferentes condições de temperatura, que foram variadas de 30 a 80°C. A atividade residual foi determinada nas respectivas condições ótimas de pH e temperatura da enzima (CAVALHEIRO et al., 2017).

Potencial catalítico para amidos de diferentes fontes vegetais

O extrato enzimático foi avaliado quanto ao potencial de hidrolisar amidos proveniente de diferentes fontes vegetais. Os ensaios enzimáticos foram realizados utilizando separadamente como substratos: amido de batata, amido de arroz, amido de mandioca, amido de aveia, amido de trigo, e amido de milho. As reações foram realizadas em tampão acetato de sódio 0,1M contendo 1% do amido no pH e temperatura ótima da enzima por 10 minutos. A quantidade de açúcar redutor liberada foi quantificada através de espectrofotometria a 540 nm, pelo método DNS (MILLER, 1959).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Efeito do pH e temperatura sobre a atividade amilolítica

A amilase produzida apresentou maior atividade em pH 5,0, entretanto até o pH 7,0 foram encontrados valores muito próximos ao ótimo (Figura 1 A). A temperatura ótima foi alcançada a 50°C (Figura 1 B).

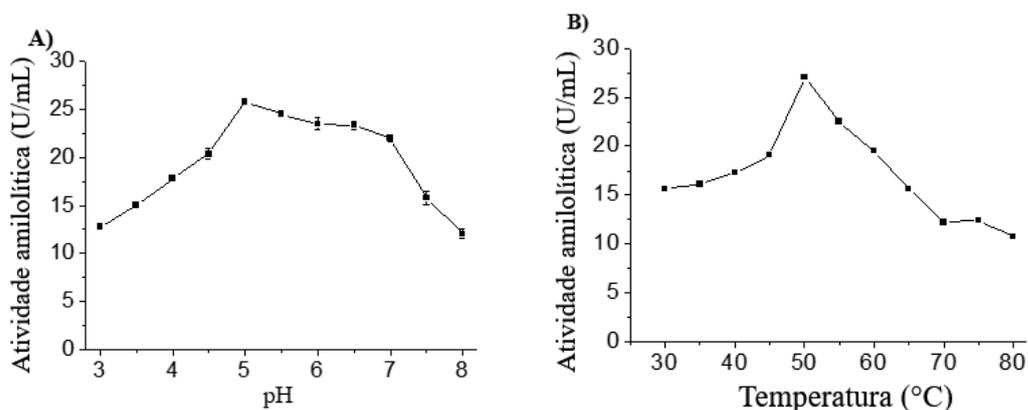


Figura 1. A) pH ótimo da amilase produzida por *F. verticillioides*; B) Temperatura ótima da amilase produzida por *F. verticillioides*.

A amilase avaliada no presente trabalho foi estável em a uma faixa de pH que variou de 4,5 a 7,0, mantida por 24 horas nos valores descritos (Figura 2 A). Com relação a termoestabilidade, a amilase produzida por *F. verticillioides* manteve sua atividade catalítica por 1 hora a 50° C, porém quando incubada por igual período na temperatura de 55°C, manteve cerca de 75% de sua atividade enzimática inicial (Figura 2 B).

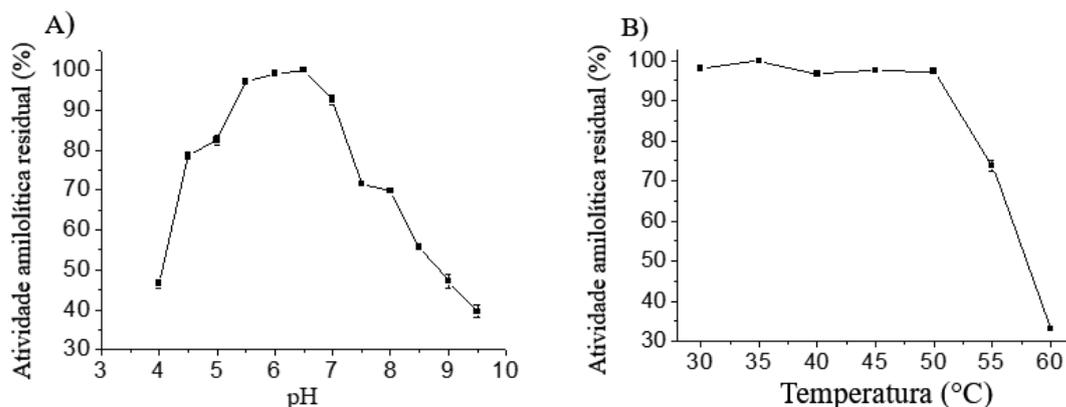


Figura 2. A) Estabilidade ao pH da amilase produzida por *F. verticillioides*; B) Estabilidade a temperatura da amilase produzida por *F. verticillioides*.

As características descritas para amilases produzida por outras linhagens fúngicas mesófilas não diferem das descritas no presente trabalho. Cavalheiro et al., (2017) descreveram a maior atividade da amilase produzida pelo fungo *Gongronella butleri* em pH 5,0 a 55°C, sendo estável por 1 hora a 40°C. A amilase produzida pelo fungo *Paecilomyces variotii*, demonstrou maior atividade catalítica em pH 4,0 e 60°C, mantendo-se estável por 1 hora a 55°C (MICHELIN et al., 2010). Já as amilases produzidas por *Aspergillus terreus* foi estável em pH 5,0 a 60°C, e manteve-se ativa por 40 minutos a 70°C (SETHI et al., 2016). Almeida et al., (2017) registraram duas espécies de fungos como bons produtores de amilases: *Aspergillus brasiliensis* e *Rhizopus oryzae*, onde as enzimas de *A. brasiliensis* possuem maiores atividades dentro de uma faixa de 60 a 75°C em uma faixa de pH com início em 3,5 até pH 5,0, enquanto as de *R. oryzae* mostraram melhores resultados quando em pH4,0 até pH5,5 e temperatura de 50 a 60°C. As enzimas produzidas por *Monascus sanguineus* apresentaram condições ótimas em 50°C e pH 5,0 (TALLAPRAGADA et al., 2017) Dessa forma, é possível corroborar que os dados descritos na literatura, confirmam os resultados obtidos no presente trabalho.

Potencial de hidrólise de amidos obtidos de diferentes fontes botânicas

O extrato enzimático produzido pelo fungo *F. verticillioides* apresentou potencial para hidrolisar amidos provenientes de diferentes fontes vegetais, sendo possível destacar a hidrólise dos amidos extraídos de aveia, batata e milho (Figura 3).

A estrutura da molécula de amido pode variar de acordo com sua origem botânica. De forma geral, moléculas de amido com elevado teor de ramificação são menos susceptíveis a ação de enzimas amilolíticas (OLIVEIRA et al., 2016).

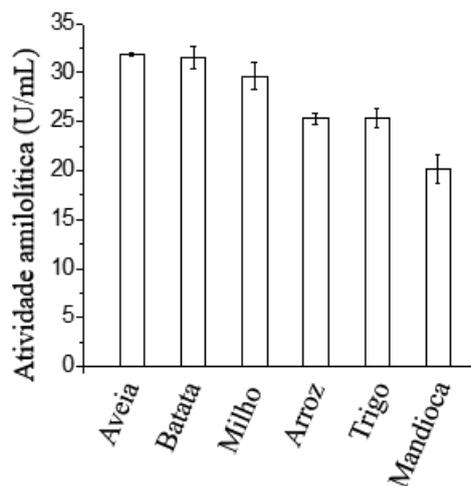


Figura 3. Potencial de hidrólise do extrato enzimático produzido pelo fungo *F. verticillioides* para amidos provenientes de diferentes fontes vegetais.

No entanto, não foi observado diferenças acentuadas nas hidrólises realizadas com diferentes amidos no presente trabalho. Esses resultados sustentam a possibilidade de ação sinérgica de diversas enzimas amilolíticas, principalmente se considerado que as hidrólises foram realizadas com extrato enzimático bruto, proveniente de cultivos em meios complexos (farelo de trigo). Dessa forma, é possível assumir que o fungo *F. verticillioides* apresenta material genético para sintetizar diferentes enzimas amilolíticas. Trabalhos anteriores confirmam que seja comum a produção de diferentes enzimas amilolíticas por uma única espécie quando cultivada em meios complexos como resíduos agroindustriais (OLIVEIRA et al., 2016; CAVALHEIRO et al., 2017).

CONCLUSÃO

A amilase produzida por *F. verticillioides* apresenta características compatíveis com amilases produzidas por outros fungos mesófilos, o que habilita sua utilização em processos pré-estabelecidos para enzimas comerciais, sendo possível destacar essa espécie como fonte alternativa para produção de enzimas amilolíticas em meios de baixo valor agregado (resíduos agroindustriais).

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, P. Z. D.; PEREIRA, M. G.; CARVALHO, C. C. D.; HEINEN, P. R.; ZIOTTI, L. S.; MESSIAS, J. M.; JORGE, J. A.; POLIZELI, M. D. L. T. D. M. Bioprospection and characterization of the amylolytic activity by filamentous fungi from Brazilian Atlantic Forest. **Biota Neotropica**, v. 17, n. 3, 2017.
- CAVALHEIRO, G. F.; SANGUINE, I. S.; SANTOS, F. R. S.; COSTA, A. C.; FERNANDES, M.; PAZ, M. F.; FONSECA, G. G.; LEITE, R. S. R. Catalytic properties of amylolytic enzymes produced by *Gongronella butleri* using agroindustrial residues on solid-state fermentation. **BioMed Research International**, v. 2017, 2017.
- DE BAERE, H. Starch policy in the European community. **Starch-Stärke**, v. 51, n. 6, p. 189-193, 1999.
- DURAND, A. Bioreactor designs for solid state fermentation. **Biochemical Engineering Journal**, v. 13, n. 2-3, p. 113-125, 2003.
- GOMES, E.; GUEZ, M. A. U.; MARTIN, N.; SILVA, R. Enzimas termoestáveis: fontes, produção e aplicação industrial. **Química Nova**, v. 30, n. 1, p. 136-145, 2007.
- HAKI, G. D.; RAKSHIT, S. K. Developments in industrially important thermostable enzymes: a review. **Bioresource Technology**, v. 89, n. 1, p. 17-34, 2003.
- JOO, H.-S.; CHANG, C.-S. Production of protease from a new alkalophilic *Bacillus sp.* I-312 grown on soybean meal: optimization and some properties. **Process Biochemistry**, v. 40, n. 3-4, p. 1263-1270, 2005.
- KRISHNA, P. N. **Enzyme Technology: pacemaker of biotechnology**. PHI Learning Pvt. Ltd., 2011. apud SUNDARRAM, A.; MURTHY, T. P. K. α -amylase production and applications: a review. **Journal of Applied & Environmental Microbiology**, v. 2, n. 4, p. 166-175, 2014.
- KRISHNA, C. Solid-state fermentation systems—an overview. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 25, n. 1-2, p. 1-30, 2008.
- LEAL, M. C. M. R.; CAMMAROTA, M. C.; FREIRE, D. M. G.; SANT'ANNA JR, G. L. Hydrolytic enzymes as coadjuvants in the anaerobic treatment of dairy

wastewaters. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 19, n. 2, p. 175-180, 2002.

MCCARTHY, T.; HANNIFFY, O.; LALOR, E.; SAVAGE, A. V.; TUOHY, M. G. Evaluation of three thermostable fungal endo- β -glucanases from *Talaromyces emersonii* for brewing and food applications. **Process Biochemistry**, v. 40, n. 5, p. 1741-1748, 2005.

MICHELIN, M.; SILVA, T. M.; BENASSI, V. M.; PEIXOTO-NOGUEIRA, S. C.; MORAES, L. A. B.; LEÃO, J. M.; JORGE, J. A.; TERENCEZI, H. F.; POLIZELI, M. L. T. M. Purification and characterization of a thermostable α -amylase produced by the fungus *Paecilomyces variotii*. **Carbohydrate Research**, v. 345, n. 16, p. 2348-2353, 2010.

MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959.

MITCHELL, D. A.; BEROVIČ, M.; NOPHARATANA, M.; KRIEGER, N. The bioreactor step of SSF: a complex interaction of phenomena. In: **Solid-State Fermentation Bioreactors**. Springer, Berlin, Heidelberg, p. 13-32, 2006.

OLIVEIRA, A. P. A.; SILVESTRE, M. A.; GARCIA, N.F.L.; ALVES-PRADO, H.F.; RODRIGUES, A.; PAZ, M. F.; FONSECA, G. G.; LEITE, R. S. R. Production and catalytic properties of amylases from *Lichtheimia ramosa* and *Thermoascus aurantiacus* by solid-state fermentation. **The Scientific World Journal**, v. 2016, 2016.

PANDEY, A. Solid-state fermentation. **Biochemical Engineering Journal**, v. 13, n. 2-3, p. 81-84, 2003.

PANDEY, A.; NIGAM, P.; SOCCOL, C. R.; SOCCOL, V. T.; SINGH, D.; MOHAN, R. Advances in microbial amylases. **Biotechnology and Applied Biochemistry**, v. 31, p. 135-152, 2000.

RAY, R. R.; NANDA, G. Microbial β -amylases: biosynthesis, characteristics, and industrial applications. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 22, n. 3, p. 181-199, 1996.

SANDHU, K. S.; SINGH, N.; KAUR, M. Characteristics of the different corn types and their grain fractions: physicochemical, thermal, morphological, and rheological properties of starches. **Journal of Food Engineering**, v. 64, n. 1, p. 119-127, 2004.

SETHI, B. K.; NANDA, P. K.; SAHOO, S.; SENA, S. Characterization of purified α -amylase produced by *Aspergillus terreus* NCFT 4269.10 using pearl millet as substrate. **Cogent Food & Agriculture**, v. 2, n. 1, p. 1158902, 2016.

SUNDARRAM, A.; MURTHY, T. P. K. α -amylase production and applications: a review. **Journal of Applied & Environmental Microbiology**, v. 2, n. 4, p. 166-175, 2014.

TALLAPRAGADA, P.; DIKSHIT, R.; JADHAV, A.; SARAH, U. Partial purification and characterization of amylase enzyme under solid state fermentation from *Monascus sanguineus*. **Journal of Genetic Engineering and Biotechnology**, v. 15, n. 1, p. 95-101, 2017.

VANDEPUTTE, G. E.; VERMEYLEN, R.; GERROOMS, J.; DELCOUR, J. A. Rice starches. I. Structural aspects provide insight into crystallinity characteristics and gelatinisation behaviour of granular starch. **Journal of Cereal Science**, v. 38, n. 1, p. 43-52, 2003

VAN DER MAAREL, M. J. E. C.; VAN DER VEEN, B.; UITDEHAAG, J. C. M.; LEEMHUIS, H.; DIJKHUIZEN, L. Properties and applications of starch-converting enzymes of the α -amylase family. **Journal of Biotechnology**, v. 94, n. 2, p. 137-155, 2002.

WANG, L. Z.; WHITE, P. J. Structure and Properties of Amylose, Amylopectin. **Cereal Chem**, v. 71, n. 3, p. 263-268, 1994.

ZEEMAN, S. C.; SMITH, S. M.; SMITH, A. M. The breakdown of starch in leaves. **New Phytologist**, v. 163, n. 2, p. 247-261, 2004.