

## Proteases e fitases de macrofungos cultivados em meio submerso com tortas de pinhão-manso ou caroço de algodão como fonte de carbono

Thaís D. D. Santana<sup>1</sup>; Thais Demarchi Mendes; Pérola O. Magalhães<sup>2</sup>; Simone Mendonça<sup>1</sup>; Félix G. de Siqueira<sup>1</sup>.

### Introdução

Os óleos vegetais podem ser matrizes para obtenção de biodiesel. No País, existem diversas espécies vegetais cujos frutos e grãos possuem óleos. Devido a rápida expansão, nos últimos anos, da demanda mundial tanto por biocombustíveis quanto por produtos obtidos de fontes renováveis se tornou preciso aproveitar, de maneira racional, os potenciais regionais brasileiros para a produção de biocombustíveis, considerando tanto as culturas tradicionais como, por exemplo, a do algodão (*Gossypium hirsutum*), quanto as culturas de novas oleaginosas, como o pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.) (LAVIOLA; ALVES, 2011). Contudo, as tortas e farelos, subprodutos da extração de óleos dessas fontes, possuem algumas limitações e podem ser usados apenas após passar por modificações. Uma forma de viabilizar a utilização destes subprodutos é realizar tratamentos, que podem ser físicos, químicos e biológicos. Outro desafio mundial se encontra na produção de rações animais pois quase sempre é preciso melhorar o valor nutricional dos ingredientes e manipular as condições existentes no trato digestivo (KUMAR et al., 2012).

Desta forma a utilização de enzimas exógenas na nutrição de monogástricos auxilia na solução de alguns problemas, sendo que, seu uso tem se tornado cada vez mais comum na atualidade (MONTEIRO et al., 2012). Esse trabalho teve como objetivo avaliar a produção de enzimas pelas atividades enzimáticas para de proteases e fitases de dois macrofungos quando cultivados em meio submerso com fontes de carbono e nitrogênio sendo as tortas provenientes da extração de óleos.

### Métodos

Os cultivos foram realizados com os macrofungos EF87 e CC400 da coleção de microrganismos da Embrapa Agroenergia. Estes foram cultivados em meio com 5 g de torta de pinhão-manso, no caso do EF 87, e 5 g torta de caroço de algodão no caso do CC400, ambos acrescidos de 95 mL de água destilada. Após a esterilização foram inoculados o

1 Embrapa Agroenergia, , Brasília/DF, Brasil;

2 Departamento de Farmácia, Universidade de Brasília – UnB, Brasília/DF.

\*thais.santana@colaborador.embrapa.br; felix.siqueira@embrapa.br

5 discos de 10 mm diâmetro de micélio dos respectivos macrofungos, que foram então dispostos em estufas ventiladas com temperatura constante de 28°C e agitação de 150 rpm. As duplicatas biológicas foram avaliadas quanto as atividades para proteases e fitases a cada dois dias durante 14 dias de cultivos. O líquido fermentado filtrado foi chamado de extrato bruto e dele as atividades enzimáticas. As atividades enzimáticas para proteases e fitases foram realizadas a partir dos extratos brutos utilizando as respectivas metodologias estabelecidas. Uma unidade de atividade proteásica foi definida como a quantidade de enzima necessária para produzir uma variação de absorbância igual a 0,1 em 60 minutos, sendo expressa em U ml<sup>-1</sup> enquanto, unidade de atividade de fitase foi definida como a quantidade de extrato bruto que foi capaz de liberar 1 µmol de fosfato inorgânico por minuto.

## Resultados e Conclusões

As duas linhagens macrofungos testadas, nas condições estabelecidas, desenvolveram-se e apresentaram as atividades enzimáticas para fitases e proteases. Os melhores resultados obtidos foram para a produção de enzima protease. Os extratos brutos obtidos do fungo CC400, cultivado em meio nutrico com torta de algodão, apresentando 215,0 U.ml<sup>-1</sup> de atividade de protease e 4,14 U.ml<sup>-1</sup> de atividade de fitase máximas, no 3° dia. Por outro lado, os extratos brutos do fungo EF 87, *quando cultivados no meio com torta de pinhão-manso*, apresentaram atividades máximas para proteases e fitases de 850,0 U.ml<sup>-1</sup> e 4,04 U.ml<sup>-1</sup> no 14° dia, respectivamente. Os dois macrofungos testados em cultivos submersos contendo tortas oleaginosas mostraram resultados promissores para produção de extratos brutos enzimáticos com atividades para proteases e fitases. A purificação parcial e caracterização quanto ao pH, temperatura, termoestabilidade são as próximas etapas da pesquisa. A concentração das amostras pode ser realizada empregando-se métodos de precipitação proteica, utilizando-se sal (sulfato de amônia) ou solventes orgânicos (etanol ou acetona). Sistemas contendo duas fases líquidas em equilíbrio termodinâmico são muito úteis para aplicações em extração e/ou purificação de biocompostos (proteínas, enzimas, células, vírus, organelas) presentes em inúmeros processos tecnológicos. Os extratos concentrados podem então serem purificados em sistema bifásico aquoso polímero-polímero (NaPa/PEG) com delineamento experimental e protocolo adequados as características das proteínas de interesse nos extratos obtidos.

## Apoio Financeiro

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) processo 404786/2013-8.

## Referências

LAVIOLA, B. G.; ALVES, A. A. Matérias-primas oleaginosas para biorrefinarias. In: VAZ JUNIOR, S. (Ed.). **Biorrefinarias: cenários e perspectivas**. Brasília, DF: Embrapa Agroenergia, 2011. p. 29-43.

KUMAR, V.; AKINLEYE, A. O.; MAKKAR, H. P. S.; ANGULO-ESCALANTE, M. A.; BECKER, K. Growth performance and metabolic efficiency in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) fed on a diet containing *Jatropha platyphylla* kernel meal as a protein source. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, Hoboken, v. 96, n. 1, p. 37-46, 2012.

MONTEIRO, S. P.; MELO, R. R. de.; TAVARES, M. P.; FALKOSKI, D. L.; GUIMARÃES, V. M.; PEREIRA, O. L.; REZENDE, S. T. Otimização da produção, caracterização e avaliação da fitase de *Rhizopus stolonifer* na hidrólise. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.18, n. 2-4, p.117-132, 2012.