

Detecção de destruxinas minoritárias após otimização das condições de crescimento do fungo *Beauveria felina* e análise por LC-MS-ELSD.

Raquel Peres de Moraes Urano^{*1} (PG), Mirna H. R. Selegim² (PQ), Aristeu G. Tinini³ (PQ), Roberto Gomes de S. Berlinck¹ (PQ). Email: raquelperes@iqsc.usp.br

¹Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, CP 780, CEP 13560-970, São Carlos, SP;

²Departamento de Ecologia e Biologia Evolutiva, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP; ³Centro Federal de Educação Tecnológica de Rio Verde, Rio Verde, GO.

Palavras Chave: destruxinas; *Beauveria felina*, fungos marinhos, quimiometria

Introdução

O fungo *Beauveria felina* produz as destruxinas,¹ depsipeptídeos cíclicos que apresentam diversas atividades biológicas como: inseticida, fitotóxica, antiviral e citotóxica. Devido ao seu alto valor agregado por serem utilizadas em controle biológico de pragas, é extremamente importante que sejam desenvolvidos métodos de otimização para a produção de destruxinas por meio fermentativo.

O presente trabalho teve como objetivo detectar destruxinas minoritárias através de análise por LC-MS-ELSD de extratos e frações obtidos a partir da otimização das condições de crescimento do fungo *Beauveria felina*.

Resultados e Discussão

O fungo *B. felina* foi crescido em 2 L de meio MF em 3 diferentes condições ótimas de crescimento. Estas condições foram estabelecidas através de métodos quimiométricos², variando-se: a composição dos nutrientes, a salinidade do meio, o pH, a temperatura e o número de dias de incubação. As condições ótimas estabelecidas foram as seguintes:

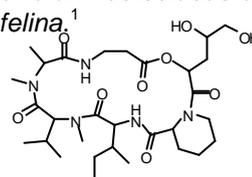
Tabela 1. Condições ótimas de crescimento do fungo *B. felina*

Experimentos	Sais	Nutrientes	Tempo (dias)	pH	Temperatura (°C)
Exp. Ot. 1	20%	10%	35	6,0	15
Exp. Ot. 2	50%	35%	28	7,0	23
Exp. Ot. 3	55%	10%	21	8,0	15

Após o tempo de incubação de cada um dos 3 experimentos de crescimento de *B. felina*, os meios de cultura foram filtrados. O meio líquido de cada experimento foi submetido a uma extração em fase sólida (SPE) em coluna C₁₈ (eluente: gradiente de MeOH em H₂O) de onde foram obtidas 4 frações. As 4 frações obtidas foram analisadas por LC-ELSD-MS em coluna C₁₈, com um gradiente de MeOH em H₂O e fluxo de 1 mL/min. Os cromatogramas obtidos por LC-ELSD-MS foram analisados observando-se os espectros de massas no modo ES+, com o intuito de encontrar diferentes destruxinas e eventuais

destruxinas desconhecidas que podem ter sido produzidas pelo fungo *B. felina* devido à otimização das condições de crescimento.

Com base nos espectros de massas observados para os sinais dos cromatogramas das análises, realizou-se uma pesquisa bibliográfica no banco de dados SciFinder, a partir da qual foi possível identificar destruxinas minoritárias, presentes nas frações analisadas por LC-ELSD-MS: destruxina A1 ou A4 (isoméricas, *m/z* 591), homodestruixina B (*m/z* 607), destruxina C2 ou desmetildestruixina C ou destruxina F (isoméricas, *m/z* 595), [Ph³, N-Me-Val⁵] destruxina B (*m/z* 655), destruxina E (*m/z* 593), destruxina E diol (*m/z* 611), hidroxihomodestruixina B ou destruxina D (isoméricas, *m/z* 623), cloridrina da destruxina A₄ (*m/z* 644), pseudodestruixina B ou pseudodestruixina C (isoméricas, *m/z* 669) e destruxina Ed1 (*m/z* 625) (1), a mais incomum, por apresentar um resíduo do aminoácido ácido pipecólico em sua estrutura. Estas destruxinas não foram detectadas anteriormente nos extratos de *B. felina*.



Destruxina Ed1

Além da otimização das condições de crescimento e produção das destruxinas ter certamente influenciado na produção das destruxinas minoritárias, estas puderam ser mais eficientemente detectadas utilizando detector de espalhamento de luz evaporativo (ELSD), já que muitas destruxinas não apresentam cromóforos.

Conclusões

Neste trabalho foram utilizadas análises por LC-MS-ELSD para detecção de diferentes destruxinas e destruxinas desconhecidas produzidas pelo fungo *Beauveria felina* de origem marinha, após a otimização das condições de crescimento do fungo utilizando de métodos quimiométricos.

Agradecimentos

À FAPESP ao CEBIMar-USP.

¹Lira, S.P.; Vita-Marques, A.M.; Selegim, M.H.R.; Bugni, T.S.; Labarbera, D.; Sette, L.D.; Sponchiado, S.R.P.; Ireland, C.M.; Berlinck, R.G.S. *J. Antibiotics*. **2006**, 59, 553-563.

² Teófilo, R.E.; Ferreira, M.M.C. *Quím. Nova*. **2006**, 29, 338 – 350,.