

Otimização da Produção de Lacase por *Botryosphaeria rhodina* MAMB-05 em Fase Sólida utilizando Torta de Milho como Substrato

Bruna Z. da Costa¹ (IC), Josana Maria Messias¹ (PG), Robert F. H. Dekker² (PQ), Ieda S. Scarminio (PQ)³, Aneli M. Barbosa^{1*} (PQ). *aneli@uel.br.

¹Depto de Bioquímica e Biotecnologia,²Depto de Química, CCE, Universidade Estadual de Londrina, CEP 86051-990, CX Postal 6001, Londrina –PR, Brasil. ³Biorefining Research Initiative, Lakehead University, Thunder Bay, Ontario, Canada P7B 5E1

Palavras Chave: lacases, fermentação em estado sólido, resíduos agroindustriais, superfície de resposta

Introdução

As lacases são polifenol oxidases que catalisam a oxidação de uma variedade de compostos aromáticos, possuindo amplas aplicações biotecnológicas¹. O *B. rhodina* MAMB-05 é um fungo endofítico, descrito como produtor constitutivo de lacase². A fermentação em estado sólido (FES) envolve o crescimento de microrganismos em uma matriz sólida úmida, na ausência de água livre, possuindo diversas vantagens quando comparada a fermentação submersa³. Este trabalho objetivou selecionar a melhor torta oleaginosa (soja, mamona, milho ou azeitona) para a produção de lacase por *B. rhodina*, assim como otimizar a produção desta enzima, por FES, utilizando o resíduo previamente escolhido como substrato, através de planejamento fatorial e análise por superfície de resposta.

Resultados e Discussão

O *B. rhodina* foi cultivado, via FES, em diferentes concentrações das tortas de soja, milho, mamona e azeitona. O melhor meio para a produção de lacase, por este ascomiceto, foi a torta de milho, a 25 % m/v. Este meio foi utilizado para a otimização da produção desta enzima, em frascos de Erlenmeyer de 50 mL, contendo 10 mL de meio mínimo de Vogel. Um planejamento fatorial composto central 2³ foi desenvolvido, avaliando-se as variáveis concentração do inóculo, tempo de cultivo e concentração de cobre (Tabela 1). Uma suspensão de células (1 mL) contendo quantias variáveis de micélio foi utilizada como inóculo. Os cultivos foram interrompidos pela adição de 25 mL de água destilada, homogeneização, agitação (180 rpm, 30 min, 28 °C) e centrifugação (3000 rpm, 15 min, temperatura ambiente). Os sobrenadantes foram dialisados e congelados para posterior determinação enzimática. A atividade de lacase foi determinada pelo método do ABTS (50 °C, pH 3,0, 420 nm), sendo uma unidade de atividade definida como 1 μmol de ABTS oxidado por minuto, por mL da solução de enzima, sendo convertida a U/g de substrato seco. Os resultados obtidos mostraram que 460 μg de micélio seco/mL de inóculo, 72 horas de cultivo e 10,24 μg de Cu/mL foram as condições

ótimas para a produção de lacase, obtendo-se uma atividade enzimática de 19,86 ± 1,01 U/g s.s. (Figura 1). As variáveis inóculo, tempo e cobre quadráticas foram significativas, mas não houve interação entre duas variáveis diferentes.

Tabela 1. Variáveis de entrada e seus níveis para um planejamento fatorial composto central 2³.

	Níveis				
	-1,68	-1	0	+1	+1,68
(I) Inóculo ¹	73,6	230,0	460,0	690,0	846,4
(T) Tempo ²	0,96	3	6	9	11,04
(C) Cobre ³	0,00	4,14	10,24	16,34	20,48

¹(μg de micélio seco/mL de inóculo), ²(dias), ³(μg/mL)

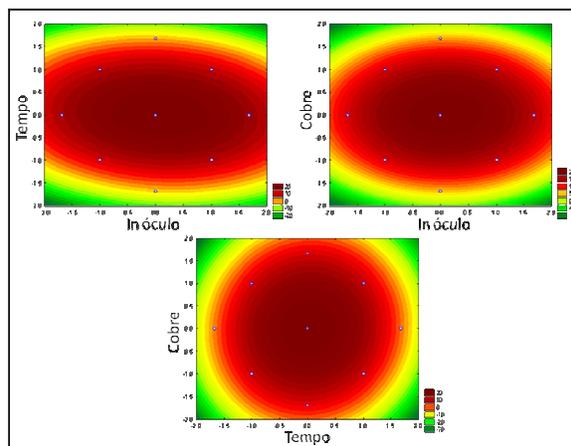


Figura 1. Gráficos de contorno da otimização da produção de lacase por *B. rhodina*, descritos pela equação $y^{\wedge} = -2,71F^2 - 8,10T^2 - 5,38C^2$.

Conclusões

A produção de lacase por *B. rhodina* foi otimizada, através de planejamento fatorial, sendo obtida uma atividade enzimática ótima de 19,86 U/g s.s.

Agradecimentos

Ao CNPq Projeto N° 474340/2006-6, CNPq-PIBIC-UEL e às indústrias Imcopa e Granosul.

¹Couto, S.R. e Herrera, J.L.T *Biotechnol. Adv.* **2006**, 24, 500-513.

²Barbosa A.M. e Dekker, R.F.H. *Hardy GE Lett Appl Microbiol.* **1996**, 23, 93-96.

³Pandey, A. *Biochem. Eng. J.* **2003**, 13, 81-84.