

Comparação da Produção de Lacase por *Botryosphaeria rhodina* MAMB-05 em Fase Sólida e Submersa em Tortas Oleaginosas

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

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

Palavras Chave: lacases, resíduos agroindustriais, *Botryosphaeria rhodina*

Introdução

Fungos pertencentes ao gênero *Botryosphaeria* são endofíticos, sendo descritos como produtores de lacases, pectinases, glucanases, celulasas, xilanases, amilases e inulinasas¹. As lacases (EC 1.10.3.2) são polifenol-oxidases e possuem aplicações biotecnológicas em indústrias têxteis, alimentícias e de polpa e papel². A produção de enzimas tem sido realizada, comumente, utilizando-se processos de fermentação submersa (FSm), porém sistemas em fase sólida (FES), também são promissores³. O *B. rhodina* foi previamente selecionado como produtor de lacase, após cultivado em diferentes óleos vegetais como única fonte de carbono por FSm. O objetivo deste trabalho foi comparar a produção de lacase por *B. rhodina* via FSm e FES, utilizando-se diferentes tortas oleaginosas como fonte de substrato.

Resultados e Discussão

O ascomiceto foi mantido em meio sólido de Vogel⁴ a 4,0 °C. O *B. rhodina* foi cultivado via FES, em frascos de Erlenmeyer de 50 mL, utilizando diferentes concentrações das tortas de soja, oliva, milho e mamona (Figura 1a), e via FSm em frascos de 125 mL contendo 25 mL de meio líquido, com ou sem adição de Vogel⁴ e 1% m/v dos respectivos resíduos (Figura 1b). Os cultivos foram mantidos estáticos ou agitados (180 rpm), respectivamente, por 5 dias à 28 °C. Uma suspensão de células (200 a 260 µg de micélio seco/mL) foi utilizada como inóculo. Os cultivos em FES foram interrompidos pela adição de água destilada, homogeneização, agitação em incubadora orbital e centrifugação e os em FSm por centrifugação. Os extratos brutos livres de células foram dialisados e congelados para posterior determinação enzimática. A atividade de lacase foi determinada pelo método do ABTS (50 °C, tampão citrato fosfato, 120 mM, pH 3,0, 420 nm)², e a 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. A Figura 1a mostra que o substrato de milho (30% m/v) destacou-se quanto à produção de lacase via FES (19,33 ± 2,90 U/g substrato). Não se

observou produção de lacase por *B. rhodina* nos substratos de mamona e oliva, neste tipo de fermentação. A torta de milho também foi a melhor fonte de carbono para a produção desta enzima por FSm, pela qual foi obtida 311 ± 10 U/g de substrato. Observou-se que a FSm foi o processo fermentativo mais indicado para a produção de lacase por *B. rhodina*, utilizando os resíduos agroindustriais avaliados, visto que foram produzidos títulos quinze vezes maiores quando este ascomiceto cresceu sob esta condição.

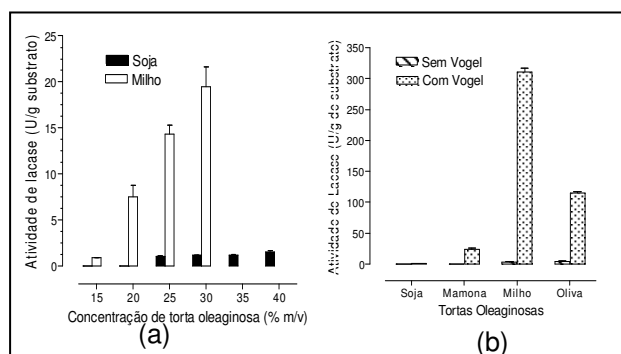


Figura 1. Comparação da produção de lacase por *B. rhodina* em tortas oleaginosas, via (a) FES e (b) FSm.

Conclusões

A torta de milho destacou-se como substrato para a produção de lacase por *B. rhodina* nos processos fermentativos em fase sólida e submersa. Porém, observou-se que a FSm foi o processo mais eficiente para a produção desta enzima por este ascomiceto.

Agradecimentos

Ao CNPq Projeto N° 474340/2006-6, CNPq-PIBIC-UEL e às indústrias Imcopa e Granosul pela doação dos resíduos agroindustriais para esta pesquisa.

¹Cunha, M.A.A.; Barbosa, A.M.; Giese, E.C.; Dekker, R.F.H. *J Basic Microbiol.* **2003**, 43, 385-392..

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

³Pandey, A.; Selvakumar, P.; Soccol, C.R.; Nigam, P. *Curr. Sci. Assoc.* **1999**, 77,140-162.

⁴Vogel, H.J. *Genetic Bull.* **1956**, 13, 42-43.