

PRODUÇÃO DE XILANASE POR *Aspergillus nidulans* A773 COM RESÍDUO AGROINDUSTRIAL E SUPLEMENTAÇÃO DE MALTOSE



Roberta Lima Panozzo, Bruna da Silva Menezes, Marco Antônio Záchia Ayub
Universidade Federal do Rio Grande do Sul



Introdução

Fungos têm a capacidade de produzir enzimas a partir de fontes de carbono e nitrogênio e secretá-las no meio. Dentre estas fontes, estão os resíduos agroindustriais, interessantes pelo aproveitamento de rejeitos e pelo baixo custo. A enzima xilanase, além de possuir aplicações industriais, pode ser utilizada para produzir xilooligosacarídeos (XOS), conhecidos como prebióticos. O fungo recombinante utilizado possui o gene de produção de endo-xilanases e a capacidade de secretar altas quantidades de enzima no meio, e expressa maior produção em meio suplementado com maltose.

Objetivo

O objetivo deste estudo foi testar suplementações de 1%, 3% e 5% de maltose em cultivo em estado sólido com substrato casca de arroz e verificar sua influência nos valores de atividade enzimática, bem como a produção simultânea de XOS.

Material e Métodos

O fungo recombinante utilizado foi obtido transferindo-se os genes que codificam as endo-xilanases (XynC) de *Penicillium funiculosum* para o organismo modelo, *Aspergillus nidulans* A773. O cultivo foi realizado em estado sólido, em frascos Erlenmeyers contendo 5 g de substrato casca de arroz, 11 mL de tampão acetato de sódio (50 mM, pH 5,5) e 4 mL de meio mínimo suplementado com piridoxina (Segato et al., 2012). Os frascos foram fechados e esterilizados a 121°C por 15 min e então inoculados com 107 células/mL, previamente avaliadas em câmara de Neubauer. Os frascos foram então incubados à temperatura de 37°C. A análise da atividade enzimática foi realizada nos dias 2, 5, 7 e 9 após a inoculação, a fim de obter-se a cinética da atividade da enzima. Em cada análise, foi realizada a extração com tampão acetato de sódio (50 mM, pH 5), a 180 rpm e 37°C, por 30 min. O conteúdo foi centrifugado a 4.500 g, a 4°C por 15 min. Os sobrenadantes foram considerados extrato enzimático bruto. A atividade enzimática da xilanase foi obtida por incubação durante 30 min a 50°C de 500 µL de extrato enzimático com 500 µL de solução xilana a 1% (Birchwood, Sigma-Aldrich) em tampão de acetato de sódio (50 mM, pH 5,0). A concentração de açúcar redutor foi determinada pelo método do ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) (Miller, 1959) usando xilose como padrão. A verificação da presença de XOS foi realizada por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, nas amostras de toda cinética.

Resultados e Discussão

Os melhores valores de atividade enzimática foram obtidos após 5 dias da inoculação, com valores aproximados de 130 U/g substrato para 1%, 80 U/g substrato para 3% e 40 U/g substrato para 5% de suplementação com maltose, respectivamente, e 230 U/g substrato para a amostra sem suplementação. As maiores atividades ao longo de toda cinética foram dos frascos suplementados com 1% de maltose, porém não foram maiores comparadas à amostra controle. Foram verificados picos de XOS apenas no início do cultivo, sendo apresentados em maior concentração no segundo dia de cultivo.

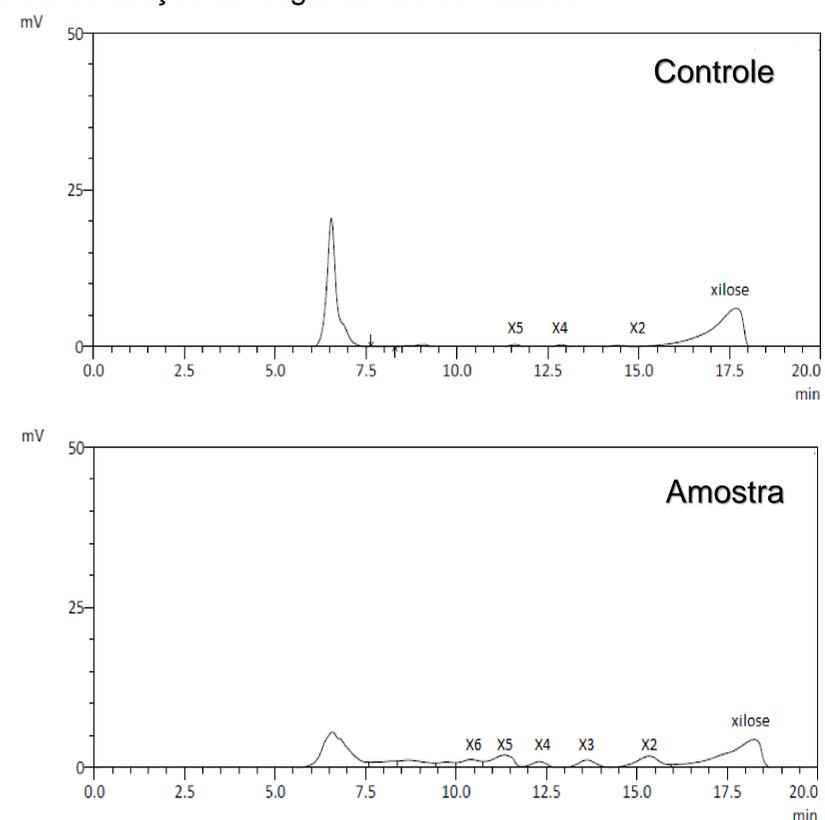


Figura 1. Cromatogramas para verificação de XOS na amostra controle (sem suplementação de maltose) e amostra de interesse no segundo dia de cultivo. Xilose, xilobiose (x2), xilotriose (x3), xilotetraose (x4), xilopentose (x5) e xilo-hexose (x6).

A amostra analisada apresentou concentração de 1,68mg de xilose/mL, 0,98 mg de x2/mL, 0,62 mg de x3/mL, 0,60 mg de x4/mL, 0,97 mg de x5/mL e 0,19 mg de x6/mL. A amostra controle não apresentou picos de x6 e x3, e os valores de concentração foram 2,18 mg/mL para xilose, 0,41 mg de x2/mL, 0,50 mg de x4/mL e 0,55 mg de x5/mL.

Pode-se concluir que a suplementação com maltose não aumentou os valores de atividade enzimática, porém interferiu positivamente na produção de XOS.

Agradecimentos

