

## PRODUÇÃO DE QUITOSANASE A PARTIR DE *Trichoderma koningi* POR FERMENTAÇÃO SEMI SÓLIDA.

L.C.A. da SILVA<sup>1</sup>, S.M.C.SILVA<sup>1</sup>, A.L.T. de JESUS<sup>1</sup>, E.S. RODRIGUES<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Biotecnologia, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Univ. Fed. Ceará, Fortaleza, CE-Brazil, e-mail: [sueli@ufc.br](mailto:sueli@ufc.br)

A hidrólise enzimática de quitina e quitosana é feita através da ação de enzimas hidrolíticas, como lisozima, quitinase, quitina desacetilase e quitosanase. Quitinases e quitosanases pertencem ao grupo das hidrolases, atuantes sobre a ligação  $\beta$ -(1-4)-glicosídica dos polímeros, originando oligossacarídeos de menor massa molar. Como a atividade enzimática de um microrganismo é controlada através da repressão e indução metabólica[1,2]. A presença de quitosana no meio contendo o microrganismo induz a produção de enzimas capazes de hidrolisarem esse polímero [3,4]. O presente trabalho visou o estudo das condições de cultivo para a máxima produção de quitosanases para posterior emprego no desenvolvimento de processos enzimáticos para obtenção de oligossacarídeos prebióticos e nutracêuticos a partir da hidrólise da quitina e quitosana obtida a partir do resíduo da indústria de carciniculatura.

Os ensaios foram realizados em Erlenmeyers fechados com tampões de algodão contendo 5g de farelo de trigo e 1g de quitosana comercial (Polymar) para a indução da produção da enzima, adicionados de 2,5 mL de uma solução salina contendo: 1 g/L de NaNO<sub>3</sub>; 1 g/L de (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; 1g/L de MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; 1 g/L de NaCl [5]. O meio foi então autoclavado a 121 °C por 15 min. O farelo de trigo utilizado neste trabalho foi obtido do comércio local (Mercado São Sebastião – Fortaleza-CE).

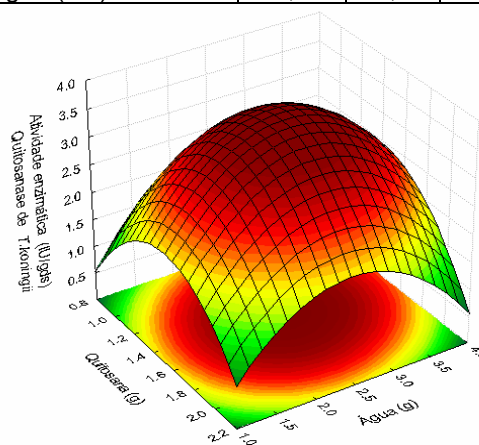
Os esporos da linhagem de *Trichoderma koningi* foram contados em câmara de Neubauer e uma quantidade de  $1 \times 10^7$  esporos foi inoculada em cada Erlenmeyer. Os fungos foram incubados a 30°C em estufa tipo BOD. As amostras foram retiradas após 48h de fermentação para as análises de atividades enzimáticas para quitosanase. Tempos superiores de fermentação resultaram em esporulação do fungo e queda da atividade enzimática.

A atividade enzimática foi determinada através da incubação do extrato enzimático bruto livre de células (100  $\mu$ L) com 400  $\mu$ L de solução de

atividade constituída de 0,4% (p/v) de quitosana em tampão acetato de sódio 200 mM, pH 5.5. à 50°C por 1 hora.

**Tabela 1.** Planejamento experimental para determinação das condições ótimas de fermentação do *T. koningii* sp.

Variáveis	Níveis		
	-1	0	1
Trigo (g)	3,0	5,0	7,0
Quitosana (g)	0,5	1,0	1,5
Água (mL)	1,5	2,5	3,5



**Fig. 1.** Atividade de quitosanase de *T. Koningii* (2,5, mL de água).

O meio ótimo para a produção da enzima é constituído de 3 g de farelo de trigo; 1,5 g de quitosana, 2,5 mL de solução salina e 2,5 mL de água adicionada para umidificação com rendimento de enzima de 3.56 UI/gds

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq pela bolsa e auxílio financeiro e a EMBRAPA pela linhagem de *Trichoderma* utilizada.

## REFERÊNCIAS

- Goto, C. E., Bardosa, E. P., Kistner, L. C. L., Moreira, F. G., Lenartovics, V., Peralta, R. M. FEMS Microbiology Letters; 167 (1998) 139.
- Gupta, R., Gigras, P., Mohapatra, H., Goswami, V. K., Chauhan, B. Process Biochemistry; 38 (2003) 1599.
- Stoyachenko, I. A., Varlamov, V. P. Carbohydrate polymers; 24, (1994) 47.
- Binod, P., Sandhya C., Pradeep S., George Szak, G., Pandey, A. Bioresource Technology; 98 (2007) 2742.