

Produção de protease em CULTIVO DE *Rhizopus oryzae* em farelo de soja

**ALVES, Chiara Leal; BRIÃO, Raquel Barbosa; SOUZA, Taiana Denardi
BADIALE-FURLONG, Eliana
chiaraleal@gmail.com**

**Evento: Congresso de Iniciação Científica
Área do conhecimento: Ciências Agrárias**

Palavras-chave: crescimento fúngico, enzima, proteína

1 INTRODUÇÃO

Estudos sobre produção enzimática a partir do cultivo micro-organismos vem sendo cada vez mais aplicado a diferentes áreas, devido a versalidade, distribuição das enzimas na natureza e aplicabilidade (Kupski, 2013).

Neste trabalho, foi avaliada atividade enzimática da protease em diferentes tempos de cultivo de *Rhizopus oryzae* utilizando farelo de soja como substrato, visando identificar mecanismos de defesa do grão contra a contaminação fúngica.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

Os resíduos agroindustriais são fontes potenciais para a obtenção de compostos bioativos. O farelo de soja possui elevado valor proteico, o que indica a possibilidade de ocorrência de enzimas proteolíticas e a contaminação por micro-organismos produtores desta classe de enzimas.

Muito se tem estudado a fim de otimizar os processos de extração ou de cultivo microbiano para a obtenção enzimas, ou metabolitos específicos presentes em fontes diversas. A extração convencional de produtos de fontes vegetais vem sendo substituída por técnicas de cultivo microbiano. Este quando realizado em estado sólido vem sendo muito explorado para produzir metabolitos fúngicos, tais como enzimas e peptídios bioativos. As vantagens da técnica incluem simplicidade, baixo custo de produção, alto rendimento e baixa geração de efluentes (Mitchell e Lonsane, 1992).

O fungo *Rhizopus oryzae* é conhecido pela produção de enzimas amilolíticas e proteolíticas (Park et al., 2009) extracelulares para degradar o substrato aonde se desenvolvem e obter nutrientes. Em vista disto é interessante para estudar sua evolução em substratos ricos em proteínas.

3 MATERIAIS E MÉTODOS (ou PROCEDIMENTO METODOLÓGICO)

O cultivo em estado sólido foi realizado em reator tipo bandeja, utilizando farelo de soja com umidade corrigida para 50% com solução nutritiva, seguido pela inoculação dos esporos de *Rhizopus oryzae* ($4,0 \times 10^6$ esporos.g⁻¹), durante 120 horas, com retiradas de 24 em 24 h.

A extração de protease foi realizada com NaCl 0,5% em agitação orbital. Seguido por purificação primária utilizando acetona e ressuspensão em NaCl 0,5%.

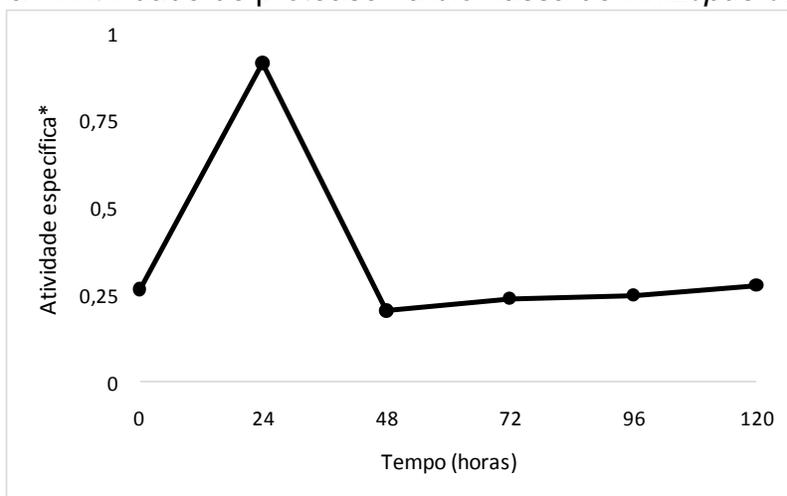
A atividade específica foi determinada utilizando albumina 0,5% como substrato, extrato protéico da biomassa e ácido tricloroacético (TCA), e determinação de tirosina por método espectrofotométrico a 660nm.

A quantificação de proteínas solúveis foi determinada pelo método de Lowry (1951), comparadas com a curva padrão de solução de albumina de soro bovino.

4 RESULTADOS e DISCUSSÃO

A atividade enzimática específica dos extratos obtidos das aliquotas dos diferentes tempos de tomada de amostra do cultivo foi empregada para avaliar a maior produção de protease (Figura 1), A maior atividade proteolítica ocorreu na biomassa de 24 horas, que foi três vezes maior em relação aos demais tempos de cultivo.

Figura 1. Atividade de protease na biomassa de *Rhizopus oryzae*.



*mg de tirosina.min⁻¹.mg de proteína⁻¹

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O cultivo de 24h do *Rhizopus oryzae* para a prospecção de proteases, usando como substrato farelo de soja triplica a atividade enzimática facilitando a recuperação e purificação para a aplicação delas.

6 REFERÊNCIAS

PARK, Y.E.; BAIK, B.K.; LIM, S.T. Influences of temperature-cycled storage on retrogradation and in vitro digestibility of waxy maize starch gel. *Journal of Cereal Science*, v. 50, p. 43–48, 2009.

MITCHEL, D.A.; ILYAS, R.; DODDS, A.W.; SIM, R.B. Enzyme-independent, orientation-selective conjugation of whole human complement C3 to protein surfaces. *Journal of Immunological Methods*, v. 337, p. 49-54, 2008.

KUPSKI, L.; ALVES, C. L.; GARDA-BUFFON, J.; BADIALE-FURLONG, E.; Application of carboxypeptidase from *Rhizopus* on ochratoxin A degradation. *BBR - BIOCHEMISTRY AND BIOTECHNOLOGY REPORTS Jul./Dez.*, v.2, n.4, p. 30-36, 2013