

## Seleção de fungos produtores de celulasas por fermentação sólida

Fábio José Inforsato,<sup>1</sup> Marcia Nitschke,<sup>1</sup> Silmara Cristina Fanti,<sup>2</sup> André Luiz Meleiro Porto<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, Av. Trabalhador São-carlense, 400, 13560-970, São Carlos, São Paulo, Brasil

<sup>2</sup>Universidade Central Paulista, Departamento de Microbiologia, Rua Miguel Petroni, 5111, Jardim Centenário, CEP 13563-470, São Carlos, SP, Brazil

### Objetivos

O objetivo deste trabalho foi selecionar fungos filamentosos capazes de produzir celulasas utilizando fermentação no estado sólido.

### Métodos/Procedimentos

Os fungos marinhos [*Trichoderma* sp. Gc1 e *Aspergillus sydowii* DR(M3)2] e terrestres [*Rhizopus* sp. Cs1 e *Aspergillus* sp. Pd1] foram inoculados em meio sólido contendo somente celulose, água do mar artificial e ágar, variando-se o pH (5 e 6), na temperatura de 34°C. Avaliou-se o crescimento microbiano por 15 dias. Também cultivou os fungos terrestres por fermentação sólida em meio contendo farelo de trigo, água do mar artificial e peptona de soja. Após o crescimento dos fungos obteve-se o extrato enzimático bruto a partir da filtração do substrato sólido com tampão acetato (pH 7,0).<sup>1</sup> O extrato bruto com o tampão foi incubado durante uma hora a 50°C, na presença de celulose (papel filtro Whatman, nº1).<sup>1</sup> A atividade de celulase presente no extrato foi determinada a partir da concentração de açúcares redutores liberados pela reação através do método DNS.<sup>2</sup>

### Resultados

Os fungos marinhos [*Trichoderma* sp. Gc1, *A. sydowii* DR(M3)2] e terrestres [*Rhizopus* sp. Cs1, *Aspergillus* sp. Pd1], foram avaliados qualitativamente quanto ao crescimento em meio sólido contendo somente celulose como substrato. Todos os fungos cresceram na presença de celulose em pH 5 e 6, exceto o *A. sydowii* DR(M3)2. Posteriormente estes fungos foram cultivados em meio líquido contendo somente a celulose como fonte de carbono. Nenhum fungo desenvolveu-se no meio líquido contendo celulose, não sendo possível avaliar a biodegradação da celulose nestas condições. Na literatura é descrito que alguns parâmetros influenciam o crescimento de fungos *Aspergillus* em bagaço de cana-de-açúcar, como o

pH, a linhagem, tipo de bagaço e o tempo de cultivo.<sup>3</sup> Assim, os fungos terrestres foram cultivados por fermentação sólida em substrato farelo de trigo e peptona. A maior atividade de celulasas ocorreu em pH 6. Os resultados mostraram que o fungo *Aspergillus* sp. Pd1 liberou em 48h de cultivo 793,0 mg/dL de açúcares redutores, em 72h de cultivo 789,0 mg/dL de açúcares redutores, em 96h essa quantidade diminuiu para 223,45 mg/dL e em 120h obteve-se 110,8 mg/dL. O *Rhizopus* sp. Cs1 apresentou uma produção em 48h de cultivo de 2092,5 mg/dL de açúcares redutores, em 72h de cultivo obteve-se 1419,0 mg/dL de açúcares redutores e em 96h a quantidade liberada de açúcares redutores reduziu para 78,38 mg/dL.

### Conclusões

O crescimento dos fungos *Rhizopus* sp. Cs1 e *Aspergillus* sp. Pd1 por fermentação sólida utilizando farelo de trigo e peptona como substrato foi adequado para avaliar a produção de celulasas. Maiores concentrações de açúcares redutores foram obtidas entre 48-72 h de cultivo. Em tempos acima de 72h de incubação, possivelmente estes açúcares liberados tenham sido consumidos pelos próprios microrganismos.

### Referências Bibliográficas

<sup>1</sup>RODRIGUEZ-ZUNIGA, Ursula Fabiola et al. Produção de celulasas por *Aspergillus niger* por fermentação em estado sólido. Pesq. Agropec. Bras. 2011, 46, 912-919.

<sup>2</sup>ORTIZ MORENO, Martha L.; URIBE - VELEZ, Daniel. Nuevo método para la cuantificación de la actividad endoglucanasa basado en el complejo celulosa-rojo congo. Orinoquia, Meta, 2011, 15, 7-15.

<sup>3</sup>Sales, M. R.; De Moura, R. B.; Porto, T. S.; De Macedo, G. R.; Porto, A. L. F. Pesq. Agropec. Bras., Brasília, 2010, 45, 1290-1296.

### Agradecimentos

FJI agradece à FAPESP pela bolsa de iniciação científica. ALMP agradece à FAPESP e ao CNPq pelos projetos aprovados.