



## Isolamento e seleção de micro-organismos produtores de L-asparaginase

Ana Beatriz Avelino Correa de Sá (EM), Ariane Machado de Souza (EM), Gabriela Raíssa Machado (EM), Thamiris R. A. de Almeida (EM), Hélia Harumi Sato (orientadora), Marília Crivelari da Cunha (monitora).

### Resumo

As L-asparaginases são enzimas que catalisam a hidrólise de L-asparagina em ácido aspártico e amônia. Esta enzima pode ser utilizada para a diminuição da formação de acrilamida em alimentos amiláceos como batatas fritas, biscoitos e pães. Entre as 98 linhagens de fungos isoladas, 61 apresentaram halo indicador de produção de L-asparaginase em teste qualitativo em placa de Petri. No estudo da produção de L-asparaginase pelos micro-organismos por fermentação em frascos Erlenmeyer as linhagens X7-II (2,30 U/mL), CHSO1-b (4,03 U/mL) e TR5 (5,82 U/mL) apresentaram maior atividade enzimática após 72 h de incubação a 30°C e 150 rpm, sendo que as demais não apresentaram atividade enzimática. Os fungos selecionados X7-II, CHSO1-b e TR5 produziram L-asparaginases com atividade ótima em pH 6,0, 9,0 e 6,5, respectivamente.

### Palavras-chave:

L-asparaginase, fungos.

### Introdução

O presente estudo visou o isolamento de linhagens de fungos potencialmente produtores de L-asparaginase para aplicação em alimentos. A L-asparaginase tem sido utilizada na indústria farmacêutica como um auxiliar no tratamento de alguns tipos de leucemia linfoblástica e na indústria de alimentos para diminuição da formação de acrilamida, um composto potencialmente carcinogênico, em batatas fritas, pães e biscoitos que contêm L-asparagina e açúcares redutores e que são aquecidos a temperaturas superiores a 120°C.

### Resultados e Discussão

Na seleção preliminar de fungos produtores da enzima L-asparaginase em placas de Petri, contendo meio Czapek Dox modificado, entre as 98 linhagens, 61 apresentaram halo de coloração rosada indicador de produção de L-asparaginase (Figura 1).



A

B

C

Figura 1 - Teste qualitativo para seleção de fungos produtores de L-asparaginase, (A) meio Czapek Dox com asparagina, (B) meio Czapek Dox com NaNO<sub>3</sub> e (C) meio Czapek Dox sem a fonte de nitrogênio.

As linhagens X7-II, CHSO1-b e TR5 apresentaram maior índice enzimático no teste qualitativo (Tabela 1), sendo selecionadas para o estudo de caracterização bioquímica da enzima.

Tabela 1- Determinação do índice enzimático (diâmetro do halo/diâmetro da colônia) para seleção de micro-organismos produtores de L-asparaginase.

Micro-organismo	IE (Índice Enzimático)
X7-II	2,03±0,2
CHSO1-b	1,94±0,02
TR5	2,27±0,24

No estudo da produção de L-asparaginase fúngica por fermentação em frascos agitados as linhagens X7-II (2,30 U/mL), CHSO1-b (4,03 U/mL) e TR5 (5,82 U/mL) apresentaram maior atividade enzimática após 72 h a 30°C e 150 rpm, sendo que as demais testadas não apresentaram atividade enzimática.

Os fungos X7-II, CHSO1-b e TR5 produziram L-asparaginases com pH ótimo de atividade de 6,0, 9,0 e 6,5, respectivamente.

### Conclusões

Foram isoladas 98 linhagens de fungos de diferentes fontes. Entre as linhagens testadas 61 apresentaram halo indicador de produção de L-asparaginase no teste qualitativo. As linhagens X7-II (2,30 U/mL), CHSO1-b (4,03 U/mL) e TR5 (5,82 U/mL) foram as únicas que apresentaram produção de L-asparaginase em frascos agitados após 72 h a 30°C e 150 rpm. As L-asparaginases dos fungos X7-II, CHSO1-b e TR5 apresentaram atividade ótima em pH 6,0, 9,0 e 6,5, respectivamente.

### Agradecimentos

Agradecemos ao CNPq, a PRP- UNICAMP e a todos que colaboraram para o andamento desse projeto.

DIAS, F.F.G., SATO, H.H. Sequential optimization strategy for maximum L-asparaginase production from *Aspergillus oryzae* CCT 3940. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 6, p. 33-39, 2016.  
GULATI, R.; SAXENA R.K.; GUPTA. R. A rapid plate assay for screening L-asparaginase producing micro-organisms. **Letters in Applied Microbiology**, v. 24, n. 1, p. 23-26, 1997.  
IMADA, A., IGARASI, S., NALKAHAMA, K., ISONO, M. Asparaginase and glutaminase activities of microorganisms. **Journal of General Microbiology**, v. 76, p. 85-99, 1973.  
MOTTRAM, D. S.; WEDZICHA, B.L.; DODSON, A.T. Food chemistry: acrylamide is formed in the Maillard reaction. **Nature**, v.419, p. 448-459, 2002.  
SCHMIDELL, W., LIMA, U.A., AQUARONE, E., BORZANI, W. **Biotechnology Industrial**, Volume 2, Engenharia Bioquímica, 1a ed., São Paulo, Ed. Edgard Blücher Ltda., 2001, 541 p.  
STADLER, R.H.; BLANK, I.; VARGA, N.; ROBERT, F.; HAU, J. GUY, P.A.; ROBERT, M.C.; RIDIKER, S. Food chemistry: acrylamide from Maillard reaction products. **Nature**, v. 419, p.449-450, 2003.