

SELEÇÃO DE BASIDIOMICETOS PRODUTORES DE AMILASES E AUMENTO DA PRODUÇÃO POR SCREENING DESIGN EM CULTIVO SUBMERSO

Luana Cristina Paludo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ), Reinaldo Ançay Junior (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ), Tirzhá Lins Porto Dantas (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ), Michele Rigon Spier (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ), Suélen Caroline Frantz (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ), Herta Stutz Dalla Santa (UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CENTRO-OESTE); E-mail: luana_cpaludo@hotmail.com

As amilases representam 25-30 % do mercado mundial de enzimas que movimentam 4 bilhões de dólares por ano. Estas enzimas são utilizadas em diversos segmentos industriais que vão desde a produção de xaropes, panificação, cervejarias, produção de biocombustível até a produção de embalagens alimentícias. Os micro-organismos representam a fonte mais significativa na produção de amilases, principalmente os fungos, que apresentam maior versatilidade na degradação de substratos. Este projeto de pesquisa contou com a seleção de linhagens de basidiomicetos com maior potencial na produção de enzimas amilolíticas por cultivo submerso (SmC). Realizou-se a otimização da produção enzimática para a cepa selecionada, dentre 11 linhagens testadas. As linhagens avaliadas foram: *Agaricus brasiliensis*, *Coprinus comatus*, *Ganoderma lucidum*, *Grifola frondosa*, *Hericium americanus*, *Lentinus edodes*, *Pholiota nameko*, *Pleurotus ostreatus europeus*, *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus ostreatus* (Pato Branco), *Pleurotus sajor-caju*. As linhagens foram reativadas e armazenadas em meio PDA e o pré-inóculo foi cultivado a 28 °C durante 5 dias em meio Czapek. Os testes foram feitos em meio contendo 1% de amido como fonte de carbono. Uma alíquota de 10 % v/v do pré-inóculo foi transferida para o meio de cultivo e incubadas por 5 dias a 28 °C. O extrato enzimático bruto dos cultivos, retirados nos tempos 96 e 120 horas, obtidos após a centrifugação a 4000 rpm/15 min foram analisados quanto ao pH, análise espectrofotométrica para α -amilase pelo método iodo/iodeto e glucoamilase pelo método DNS, determinação de amido, proteína e biomassa. As linhagens estudadas apresentaram atividade amilásica, sendo a maior potencial produtora de amilases *Coprinus comatus*, que degradou 91 % do meio em menos de 96 horas. Testes

preliminares realizados revelaram que a cepa possui tempo ideal de cultivo de 48 horas. Um delineamento Plackett-Burman Screening Design foi utilizado para o incremento da produção enzimática e as melhores atividades obtidas foram 5270 U.L⁻¹ para α -amilase, que degradou mais de 63% do substrato em 15 minutos de reação enzimática e glucoamilase obteve 55,36 U.L⁻¹. Dentre os fatores analisados, três apresentaram efeito significativo ($p < 0,05$) para α -amilase: amido, ureia e $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$. Em relação à glucoamilase, os fatores que exerceram efeito significativo na produção desta enzima foram fósforo, nitrato de sódio e sulfato de amônio.

Palavras-chave: amilase, basidiomicetos, alfa-amilase, glucoamilase, enzimas