

Estratégia sequencial de otimização da produção de L-asparaginase por *Aspergillus oryzae* IOC 3999 em fermentação submersa

Santa Maria D.R.O. Lindo*, Marília C. Cunha, Ruann Janser S. Castro, Hélia H. Sato

Resumo

L-asparaginases hidrolisam a L-asparagina em ácido L-aspártico e amônia e são utilizadas na prevenção da formação de acrilamida, em alimentos que contém açúcares redutores e L-asparagina e que são submetidos a tratamento térmico a temperaturas superiores a 120°C. No estudo dos parâmetros de cultivo da linhagem de *Aspergillus oryzae* IOC 3999, por fermentação submersa em frascos Erlenmeyer, utilizando uma estratégia sequencial de otimização foi obtido um aumento de 156 % na produção de L-asparaginase, comparado com as condições iniciais.

Palavras-chave: L-asparaginase, *Aspergillus oryzae*, planejamento experimental.

Introdução

A acrilamida é um composto potencialmente cancerígeno formado em alimentos ricos em açúcares redutores na presença de L-asparagina, como batatas fritas, pães e biscoitos aquecidos à temperaturas superiores a 120°C, por meio da reação de Maillard¹.

A L-asparaginase fúngica que hidrolisa a L-asparagina em ácido L-aspártico tem sido recomendada para a diminuição da formação de acrilamida em alimentos².

No presente trabalho foram avaliados os parâmetros de cultivo de *Aspergillus oryzae* IOC 3999 por fermentação submersa visando à otimização da produção de L-asparaginase utilizando planejamento experimental sequencial.

Resultados e Discussão

A composição do meio de fermentação desempenha um papel essencial na produção de L-asparaginase, sendo que as fontes de carbono e nitrogênio são fatores importantes para o processo. Observou-se que a lactose foi a melhor fonte de carbono ($446,7 \pm 46,48$ U/mL) e foi obtido maior atividade de L-asparaginase ($424,3 \pm 33,2$ U/mL) utilizando-se caseína como fonte nitrogênio no meio de cultura.

Utilizando-se um delineamento experimental Plackett & Burman (PB) 12 para verificar a influência de parâmetros físicos e químicos no processo de fermentação verificou-se que as variáveis que foram significativas em nível de 90% de confiança, foram L-asparagina, caseína e lactose.

Para a otimização da produção de L-asparaginase por *Aspergillus oryzae* IOC 3999 utilizando o planejamento fatorial, foram utilizadas as três variáveis significativas selecionadas no delineamento anterior. A máxima atividade de L-asparaginase ($1143,86 \pm 30,00$ U/mL) foi obtida em 48h. Para o modelo matemático proposto, o termo linear da concentração de lactose apresentou efeito significativo com 95% de confiança ($p < 0,05$), apresentando R^2 de 0,81.

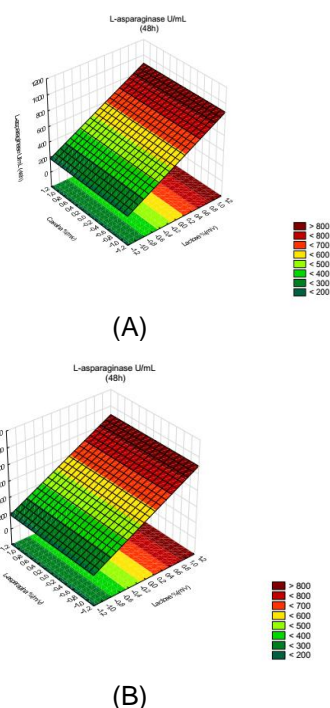


Figura 1 - Superfície de resposta resultante do efeito da lactose e caseína (A); L-asparagina e lactose (B) na produção de L-asparaginase por *Aspergillus oryzae* IOC 3999 por fermentação submersa.

Conclusões

Na fermentação do fungo em frascos Erlenmeyer contendo meio de cultura composto de 2,9% de lactose, 1,1% de L-asparagina e 0,7% de caseína, 0,152% de KH_2PO_4 , 0,052% de KCl, 0,052% de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,001% de $\text{CuNO}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, 0,001% de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ e 0,001% de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ajustado para pH 7,0 e concentração de $5,05 \times 10^6$ esporos/mL a 30 °C e 150 rpm foi obtido $1071,1 \pm 24,9$ U/mL de L-asparaginase após 72 h.

Referências

- IARC - International Agency for Research on Cancer, Acrylamide. http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol_71/mono71.
- Batool, T.; Makky, E.; Jalal, M.; Yusoff, M. *Appl. Biochem. Biotechnol.* **2016**, 178, 900-923.