

## PRODUÇÃO DE EXOPOLISSACARÍDEO POR BASIDIOMICETOS

Camila Ayumi Kondo (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Caroline Aparecida Vaz de Araujo Medeiros, Cristina Giatti Marques de Souza (Orientador), e-mail: ra103290@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas e da Saúde / Maringá, PR.

### Ciências Biológicas - Bioquímica de micro-organismos

**Palavras-chave:** polissacarídeo, Basidiomycota, biomassa.

**Resumo:** Os exopolissacarídeos (EPS) são biomoléculas de elevado peso molecular, produzidas por fungos e outros organismos e secretados extracelularmente. Podem ser utilizados nas indústrias de alimentos, de cosméticos e de nutracêuticos. São vários os fungos produtores de EPS, tanto filamentosos como leveduriformes, mas é entre os basidiomicetos que temos a maioria dos produtores. O objetivo deste estudo foi avaliar a produção de exopolissacarídeos de alguns basidiomicetos do banco de fungos do LBM da UEM. Neste estudo, quatro isolados de basidiomicetos foram avaliados. Os fungos cresceram em meio Vogel contendo glicose (2%) sob agitação (125 rpm,  $28 \pm 2$  °C). Após 8 dias a biomassa foi removida por filtração e o EPS precipitado com (3:1, V/V). O EPS foi separado e pesado. A biomassa foi seca a 50 °C e pesada após 24 horas. Foi analisado o açúcar redutor residual através do método do 3,5 dinitrosalicílico. Todos os isolados testados produziram EPS. O isolado de *Trametes* sp. C3 produziu a maior quantidade de EPS, porém, tanto a produção de sua biomassa como de EPS não foi significativamente maior ( $p > 0,05$ ) que a do isolado de *Trametes* sp. M3. O *Trametes* sp. C3, por ter crescimento mais rápido, foi cultivado em sacarose e maltose. Não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) na produção de EPS e biomassa quando o fungo cresceu em maltose e glicose. A concentração de 2% de glicose mostrou ser mais eficiente na produção de EPS pelo isolado C3. Diferentes fontes e concentrações de nutrientes influenciam na produção de EPS.

### Introdução

Os exopolissacarídeos (EPS) são biomoléculas de elevado peso molecular produzidos por fungos, bactérias, algas e plantas e são secretados extracelularmente. Podem ser utilizados nas indústrias de alimentos, de cosméticos e de nutracêuticos. Além disso, são amplamente utilizados em engenharia de tecidos, imobilização de enzimas e biossensores (CUNHA, 2009). A baixa ou ausência de toxicidade é uma das características dos EPS

de interesse da indústria de alimentos para que eles sejam usados neste setor, além de serem considerados como fonte de energia na dieta humana, funcionarem como prébióticos e possuírem propriedades medicinais. De diversificada estrutura química, os polissacarídeos extracelulares de fungos possuem na sua composição tipos diferentes de açúcar, entre eles: glicose, manose, galactose, xilose, fucose e ramnose. O padrão de ligação entre estas unidades também é muito diverso. São vários, os fungos produtores de EPS e são tanto filamentosos como leveduriformes, mas é entre os basidiomicetos que temos a maioria dos produtores. Gêneros conhecidos como *Pleurotus*, *Ganoderma*, *Trametes*, *Cordyceps*, *Inonotus* e outros são citados na literatura como produtores de exopolissacarídeos (SANCHEZ et al., 2015). Diferentes condições de cultivo são aspectos importantes para o crescimento dos fungos e produção dos EPS (BARBOSA et al., 2004). O objetivo deste estudo foi avaliar a produção de biomassa e de exopolissacarídeos de quatro isolados de basidiomicetos do banco de fungos do Laboratório de Bioquímica de Microrganismos e alimentos da UEM, dos gêneros *Trametes* e *Pycnoporus*.

## Materiais e métodos

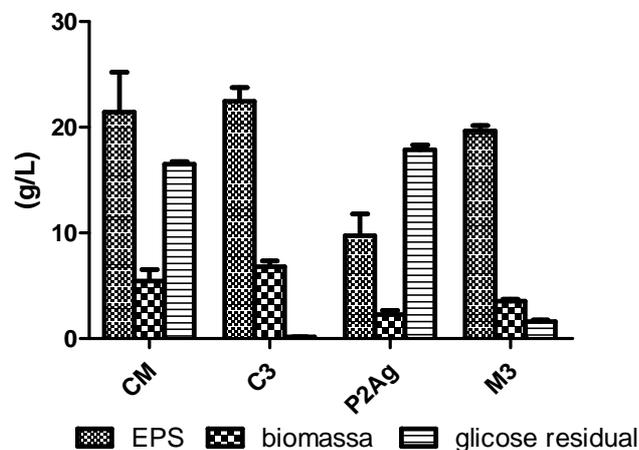
**Fungos:** os fungos do gênero *Trametes* sp., isolados C3 e M3, e *Pycnoporus* sp., isolados CM e P2Ag, foram mantidos em meio BDA (batata, dextrose, ágar) em tubos inclinados e após o crescimento foram armazenados por 30 dias em geladeira.

**Cultivo para produção de EPS:** para o inóculo, os fungos foram repicados em placa de Petri contendo meio MEA (meio ágar e extrato de malte, 2%) e mantidos em estufa a  $28 \pm 2$  °C até a total colonização. Para o cultivo, foram retirados discos de micélio com aproximadamente 2 cm de diâmetro que foram usados como inóculo em frascos Erlenmeyer de 125 mL contendo 25 mL de meio mineral com glicose (VOGEL, 1956). Após 8 dias sob agitação (120 rpm –  $28 \pm 2$  °C) o meio foi filtrado. Uma alíquota foi retirada para avaliação da glicose residual e a biomassa foi seca em estufa a 50 °C e pesada após 24 horas. Ao filtrado acrescentou-se etanol (3:1, V/V) e o EPS fresco foi separado e pesado. Os açúcares redutores foram determinados pelo método do 3,5 dinotrosalicílico (Miller, 1959). Os materiais utilizados foram esterilizados em autoclave a 121 °C e 1 atm por 20 minutos e os cultivos foram realizados em triplicata e acompanhados de um controle abiótico. Os dados foram representados como média e desvio padrão, submetidos ao teste ANOVA e comparados pelo teste Tukey ( $p < 0,05$ ) usando o programa GraphPad Prism® 5.0.

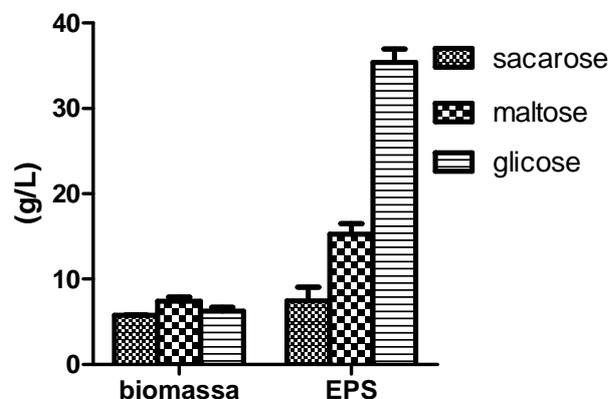
## Resultados e Discussão

Todos os isolados testados cresceram e produziram EPS em meio contendo sais de Vogel e glicose a 2%, no entanto a produção de biomassa foi menor para o fungo *Pycnoporus* sp. P2Ag (figura 1). Quanto ao consumo de

açúcar, foi maior pelos isolados de *Trametes* sp. Houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) na produção de EPS entre os isolados C3 e CM e o isolado P2Ag. Embora o crescimento dos isolados C3 e CM não tenha sido diferente significativamente ( $p > 0,05$ ), o isolado C3 foi escolhido para o teste de produção de EPS em sacarose e maltose. EPS podem apresentar tipos diferentes de açúcar em sua composição o que ocasiona mudanças em suas propriedades. Variações nas condições de cultivo como fonte de carbono, nitrogênio e agitação podem levar à otimização da produção de EPS (BARBOSA et al, 2004). Os dados mostram que não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) na produção de biomassa porém a sacarose não proporcionou uma boa secreção do EPS comparada à maltose e à glicose, esta última significativamente melhor ( $p < 0,05$ ) (figura 2).



**Figura 1** – Produção de biomassa e de exopolissacarídeo por isolados de *Trametes* sp. (C3 e M3) e *Pycnoporus* sp. (CM e P2Ag) em meio contendo glicose 2%.



**Figura 2** – Produção de exopolissacarídeo pelo *Trametes* sp. C3 em diferentes fontes de carbono a 2%.

## Conclusões

Todos os isolados produziram EPS, porém o isolado P2Ag apresentou a menor produção. O isolado C3 mostrou ser um fungo mais robusto crescendo em placa de Petri em apenas 5 dias de cultivo e também em cultivo submerso, por isto se mostra mais promissor na produção de EPS que os demais. O consumo de açúcar variou entre os isolados, mas os do gênero *Trametes* consumiram mais glicose que os do gênero *Pycnoporus*.

## Agradecimentos

À Fundação Araucária pelo apoio financeiro e pela oportunidade. Ao Laboratório de Bioquímica de Microrganismos e Alimentos (LBM) do Departamento de Bioquímica pela disponibilidade de equipamentos.

## Referências

BARBOSA, A. M. et al. Production and Applications of Fungal Exopolysaccharides. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas**, v. 25, n. 1, p. 29-42, 2004.

CUNHA, P. L. R. Polissacarídeos da biodiversidade brasileira: uma oportunidade de transformar conhecimento em valor econômico. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p.649-660, 2009.

SANCHEZ, O. J., MONTOYA S.; VARGAS, L. M. Polysaccharide Production by Submerged Fermentation. In: RAMAWAT, K.G., MÉRILLON, J.- M. (Eds.) **Polysaccharides Bioactivity and Biotechnology**, New York: Springer, 2015. p. 451-473.

MILLER, G.L. Use of dinitrosalicilic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959.

VOGEL, H. J. A convenient growth medium for *Neurospora* (Medium N). **Microbial Genetics Bulletin**, v. 13, p. 42-43, 1956.