



Autor(es): NAILMA DE JESUS MARTINS, PATRÍCIA NIRLANE DA COSTA SOUZA, PEDRO HENRIQUE GOMES ARAÚJO, TALITA VITÓRIA FERREIRA DE SOUZA, JORDANE SILVA RODRIGUES, KARLA TAISA PEREIRA COLARES

Seleção de fungos filamentosos produtores de tanase isolados de bananeira (*Musa sp.*) do norte de Minas Gerais

Introdução

Os taninos são polifenóis de origem vegetal, com pesos moleculares geralmente de 500 a 3000 Da, solúveis em água e provenientes do metabolismo secundário das plantas. Esses compostos, apresentam efeitos negativos como na nutrição animal, devido ao gosto adstringente ou pela capacidade de se ligar e precipitar macromoléculas, tornando-as indigeríveis (KRAUS et al., 2003). Deste modo, elevados conteúdos de taninos em rações levam a um menor consumo involuntário e baixa eficiência na digestibilidade e produtividade animal. Além disso, os taninos apresentam impasses no processamento de alimentos, como sucos, chás e cervejas e no descarte de resíduos de couro curtido com taninos. Dessa maneira, sua degradação tem sido estudada pela utilização de enzimas, principalmente a tanase (AGUILAR et al., 2007).

Tanino acil hidrolase, conhecida como tanase (E.C. 3.1.1.20), é uma enzima induzível, que hidrolisa ésteres e ligações laterais de taninos hidrolisáveis, liberando glicose e ácido gálico. Esta enzima é produzida por fungos, bactérias e leveduras em fermentação sólida ou submersa (LIU et al., 2016). A tanase é uma hidrolase de grande interesse na indústria de alimentos, visando reduzir o conteúdo de taninos em bebidas com altos teores desses compostos fenólicos, na indústria farmacêutica, para produção de ácido gálico, precursor de drogas antibacterianas, assim como no tratamento de rações e de resíduos provenientes da indústria de couro curtido com taninos (BATRA; SAXENA, 2005). Apesar de todas as aplicações, o uso prático dessa enzima é atualmente limitado, devido ao alto custo, falta de conhecimento sobre suas propriedades, condições ótimas de produção e aplicação em larga escala (AGUILAR et al., 2007). Desse modo, é interessante a seleção de microrganismos que produzem grandes quantidades desta enzima, bem como o emprego de substratos de baixo custo para sua produção, viabilizando sua aplicação nos mais diversos seguimentos industriais.

Assim, o objetivo do trabalho foi selecionar fungos filamentosos produtores de tanase, isolados de bananeira, em meio de cultura contendo ácido tânico como única fonte de carbono.

Material e métodos

A. Seleção em placas de fungos filamentosos produtores de tanase

Fungos filamentosos isolados de bananeira (*Musa sp.*) e que fazem parte da coleção de cultura do laboratório de Biologia do Instituto de Engenharia, Ciência e Tecnologia (IECT) da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM) – Campus Janaúba-MG, foram avaliados quanto a capacidade de produzir tanase em meio Ágar ácido tânico (TAA). O meio foi constituído de (g/L): 10g de ácido tânico; 3g de NaNO₃; 1g de KH₂PO₄; 0,5g de MgSO₄; 0,5 g de KCl; 0,01 g de FeSO₄; 30 g de Agar (PINTO et al., 2001). As placas foram incubadas em temperatura ambiente e o diâmetro das colônias e dos halos enzimáticos (zona clara ao redor da colônia) foram medidos após 160 h, para o cálculo do índice enzimático - IE (diâmetro do halo / diâmetro da colônia).

Resultados e discussão

Trinta e nove fungos foram avaliados quanto à sua capacidade de produzir tanase em meio ágar ácido tânico. Entre estes, 27 fungos apresentaram uma zona clara ao redor da colônia (Fig. 1), o que indica, de acordo com Batra e Saxena (2005), a habilidade destes microrganismos em degradar o ácido tânico presente no meio e, portanto, de produzirem a enzima tanase. Assim, foi calculado, para estes isolados, os índices enzimáticos que foram apresentados na Tabela 1. Os demais fungos não apresentaram capacidade de produção da enzima, uma vez que seu crescimento foi muito restrito e nenhuma zona clara pode ser observada.

Entre os isolados que apresentaram formação do halo, nove pertencem ao gênero *Aspergillus*, um ao gênero *Penicillium* e 17 isolados não foram identificados. Entre estes, os fungos com maiores IE foram o Ca1.03, isolado da casca de banana verde, que apresentou um IE de 1,93 e o fungo Pe1.11, isolado do pecíolo, que apresentou IE de 1,91. Ambos ainda não foram identificados. Os demais isolados apresentaram IE variando de 1,08 a 1,84. Entre os fungos com IE maiores que 1,5, três pertencem ao gênero *Aspergillus* (F5.1.4; F2.1; PS2-02), um *Penicillium* (F6.1.3) e oito não foram identificados (CA1.03; PE1.11; F6.1.1; PE1.10; PE1.9B; F3.1; C4.1; F2.21). Os gêneros *Aspergillus* e

10^o

FEPEG FÓRUM

ENSINO • PESQUISA
EXTENSÃO • GESTÃO

RESPONSABILIDADE SOCIAL: INDISSOCIABILIDADE
ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO UNIVERSITÁRIA



ISSN 1806-549 X

Penicillium identificados neste trabalho, já são relatados como produtores de enzimas de interesse industrial, incluindo tanase, como por exemplo, *Aspergillus fumigatus*, *A. versicolor*, *A. flavus*, *A. caespitosum*, *Penicillium charlessi*, *P. variable*, *P. crustosum* e *P. restrictum* (BATRA; SAXENA, 2005).

O método da seleção em placas, apesar de ser uma metodologia qualitativa, tem sido relatada como sendo rápida, simples e conveniente para a triagem de microrganismos produtores de tanase, principalmente quando se dispõe inicialmente de um grande número de isolados, uma vez que reduz tempo e gastos com este processo inicial de seleção (BATRA; SAXENA, 2005; PINTO et al., 2001). Além disso, o IE, tem sido utilizado para seleção de fungos produtores de enzimas de interesse industrial, sendo considerado promissor o microrganismo que apresentar maiores valores de IE (HANKIN; ANAGNOSTAKIS, 1975). Portanto, os isolados que apresentaram, neste trabalho, um IE maior que 1,5 serão avaliados, quantitativamente, quanto a sua habilidade em produzir tanase em meio líquido, contendo ácido tânico como única fonte de carbono a fim de selecionar um dos isolados para futuros trabalhos de otimização da produção dessa enzima.

Conclusão

Foi possível observar que um número significativo dos fungos avaliados apresentaram um índice enzimático satisfatório, sendo que este resultado pode ser atribuído ao fato da bananeira, assim como a maioria dos vegetais, ser um substrato rico em taninos, o que pode favorecer o crescimento de fungos produtores de tanase. Além disso, alguns isolados pertencentes ao gênero *Aspergillus* e *Penicillium* apresentaram um IE maior que 1,5, resultado este já esperado, uma vez que estes gêneros são reconhecidos por apresentar espécies promissoras na produção de diversas enzimas industriais, incluindo tanase. Assim, pretende-se avaliar, em trabalhos futuros, estes isolados em meio líquido, afim de selecionar um que possa ser utilizado em processos que otimizem a produção desta enzima, visando a viabilização de sua aplicação em larga escala.

Agradecimentos

Agradecemos a empresa Epamig por disponibilizar a cultura de bananeira, o IECT/UFVJM pela disponibilização do laboratório e equipamentos e a FAPEMIG pela concessão de bolsas de iniciação científica júnior.

Referências bibliográficas

- AGUILAR, C. N., RODRÍGUEZ, R., GUTIÉRREZ-SÁNCHEZ, G., AUGUR, C., FAVELA-TORRES, E., PRADO-BARRAGAN, L. A., RAMÍREZ-CORONEL, A., CONTRERAS-ESQUIVEL, J. C. Microbial tannases: advances and perspectives. **Appl. Microbiol. Biot.** v. 76, n. 1, p. 47-59, aug. 2007.
- BATRA, A., SAXENA, R. K. Potential tannase producers from the genera *Aspergillus* and *Penicillium*. **Process. Biochem.** V.40, 1553-1557, 2005.
- HANKIN, L.; ANAGNOSTAKIS, S. L. The use of media for detection of enzymes production by fungi. **Mycologia.** v. 67, n. 3, p. 597-607, 1975.
- KRAUS, T. E. C.; DAHLGREN, R. A.; ZASOSKI R. J. Tannins in nutrient dynamics of forest ecosystems – a review. **Plant soil.** v.256: 41-66, 2003.
- LIU, T. P. S.L.; PORTO, T.S.; MOREIRA, K. A.; TAKAKI, G. M. C.; BRANDÃO-COSTA, R.; HERCULANO, P. N.; PORTO, A.L.F. Tannase production by *Aspergillus* spp. UCP1284 using cashew bagasse under solid state fermentation. **Afr. J. Microbiol. Res.** v.10, pp. 565-571, april, 2016.
- PINTO, G. A. S., LEITE, S. G. F., TERZI, S. C., COURI, S. Selection of tannase-producing *Aspergillus niger* strains. **Braz. J. Microbiol.**, v. 32: 24 – 26, 2001.



Tabela 1. Índice enzimático (Diâmetro do halo/Diâmetro da colônia) dos fungos filamentosos crescidos em meio de cultura contendo ácido tânico como única fonte de carbono.

Isolados	Gêneros	Índice Enzimático	Isolados	Gêneros	Índice Enzimático
CA 1.03	Não identificado	1,93	PE 1.2 B	Não identificado	1,39
PE 1.11	Não identificado	1,91	PE 1.5	<i>Aspergillus</i> sp.	1,37
F 6.1.1	Não identificado	1,84	F 4.2.1	Não identificado	1,37
PE 1.10	Não identificado	1,83	E 1.7	Não identificado	1,33
PS2-02	<i>Aspergillus</i> sp.	1,81	PE 1.03	<i>Aspergillus</i> sp.	1,30
PE 1.9 B	Não identificado	1,80	CA 1.02 AL	Não identificado	1,28
F 3.1	Não identificado	1,75	3.2	Não identificado	1,27
2.1	<i>Aspergillus</i> sp.	1,67	4.1	Não identificado	1,25
C4.1	Não identificado	1,64	PE 1.2	<i>Aspergillus</i> sp.	1,25
F 6 1.3	<i>Penicilium</i> sp.	1,60	CA 1.02 AB	Não identificado	1,22
F 2.21	Não identificado	1,50	CA 1.05	<i>Aspergillus</i> sp.	1,21
5.1.4	<i>Aspergillus</i> sp.	1,50	CA 1.02 AV	<i>Aspergillus</i> sp.	1,18
C 1.1	<i>Aspergillus</i> sp.	1,44	PE 1.9	Não identificado	1,08
CA 1.06	Não identificado	1,40			

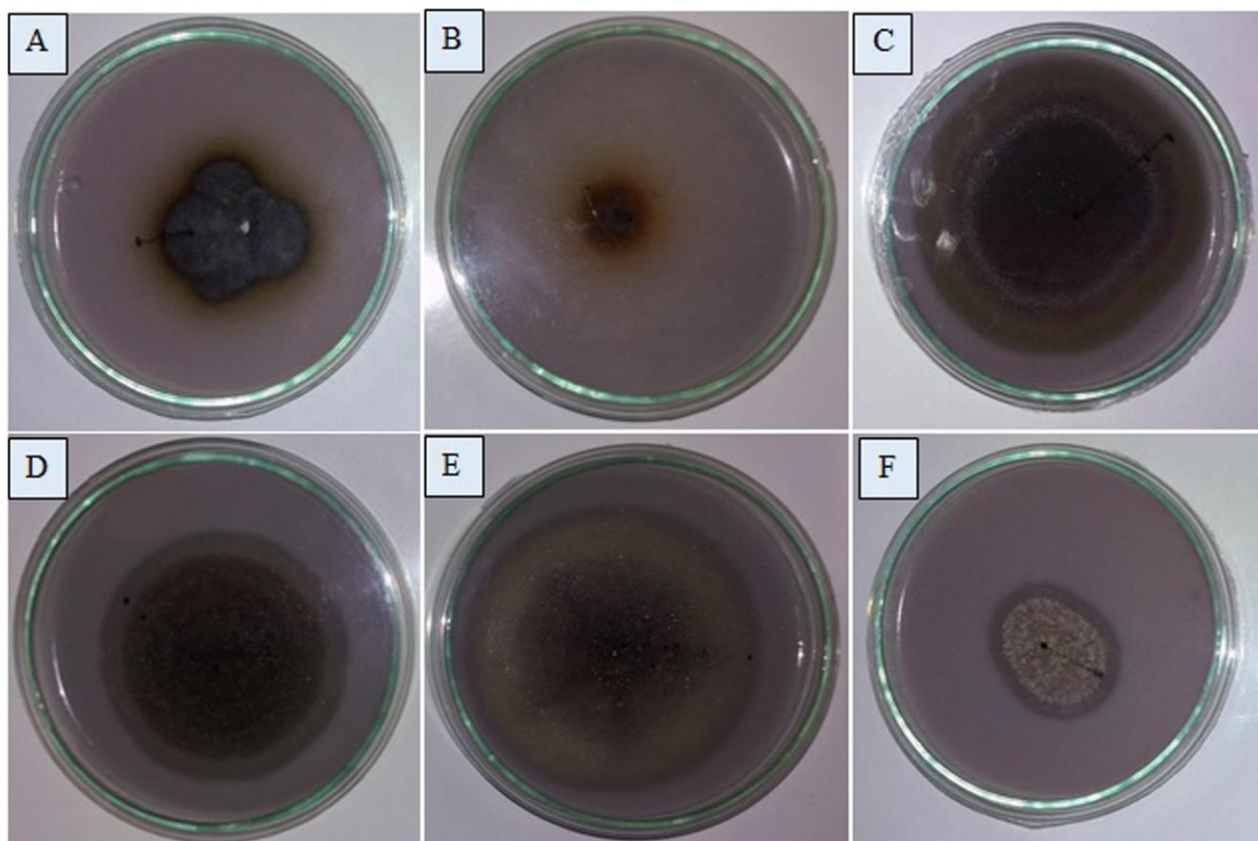


Figura 1. Zona de degradação do ácido tânico, ao redor das colônias, produzida por fungos filamentosos inoculados em meio TAA após 160 h à temperatura ambiente. Fig. 1A: Isolado CA1.03 (IE = 1,93); Fig.1B: Isolado PE1.11 (IE = 1,91); Fig. 1C: *Aspergillus* sp. PS2-02 (IE =1,81); Fig. 1D: Isolado PE1.9B (IE = 1,80); Fig. 1E: *Aspergillus* sp. 2.1 (IE =1,67); Fig. 1F: *Aspergillus* sp. CA1.02AV (IE = 1,18).