



POTENCIAL DO FUNGO *Aspergillus ochraceus* URM604 PARA PRODUÇÃO DE ENZIMAS DE INTERESSE FARMACÊUTICO

Luiz Henrique Sventiskas Lino¹

Luiz.sventiskas@upe.br

Kethelen Barbara Barbosa Cardoso²

kethybarbara@gmail.com

Raphael Luiz Andrade Silva

raphaeluizandradesilva@gmail.com

Romero Marcos Pedrosa Brandão Costa¹

romero.brandao@upe.br

Daniela Araújo Viana Marques¹

daniela.viana@upe.br

¹ Universidade de Pernambuco

² Universidade Federal de Pernambuco

INTRODUÇÃO

Proteases são enzimas que desempenham um papel fundamental na catálise da hidrólise de ligações peptídicas em proteínas, sendo amplamente exploradas na indústria devido à sua diversidade bioquímica e à capacidade de atuação em uma ampla gama de substratos (Jamal *et al.*, 2024). No contexto industrial, proteases são aplicadas em diferentes setores, incluindo o alimentício, o têxtil, o farmacêutico, e o de tratamento de resíduos, entre outros (Song *et al.*, 2023). A utilização de proteases na indústria farmacêutica, por exemplo, é de particular interesse devido à sua capacidade de atuar de forma específica em substratos como a fibrina, uma proteína essencial presente nos coágulos sanguíneos, e o colágeno, componente estrutural predominante em tecidos conectivos (Jamal *et al.*, 2024; Franco *et al.*, 2022).

Entre as proteases de interesse farmacêutico, destacam-se as enzimas fibrinolíticas e colagenolíticas. As enzimas fibrinolíticas são usadas principalmente para a quebra de fibrina, desempenhando um papel crucial na prevenção e tratamento de distúrbios trombóticos (Hazare *et al.*, 2024). Por outro lado, as colagenases têm a capacidade de degradar a tripla hélice do colágeno nativo e desnaturalizado, sendo amplamente utilizadas no tratamento de feridas e em procedimentos dermatológicos e cosméticos (Zhang e Han, 2024). A eficiência dessas enzimas em processos biológicos complexos torna-as candidatos ideais para o desenvolvimento de novos fármacos e terapias.

Fungos filamentosos, especialmente aqueles pertencentes aos gêneros *Aspergillus*, *Paecilomyces*, *Mucor* e *Penicillium*, têm se mostrado excelentes produtores de proteases com atividades fibrinolítica e colagenolítica (Supit *et al.*, 2024). Entre esses, o gênero *Aspergillus* é frequentemente destacado pela sua robustez e eficiência na produção enzimática, incluindo a capacidade de secreção de enzimas em grandes quantidades e a adaptação a diferentes condições de cultivo e substratos. A produção de proteases por esses fungos pode ser influenciada por vários fatores, como a composição do meio de cultivo, a temperatura, o pH e a disponibilidade de nutrientes (Osmolovskiy *et al.*, 2023)..

Diante disso, o presente estudo teve como objetivo avaliar o potencial do fungo *Aspergillus ochraceus* na produção de enzimas com atividades proteolítica, colagenolítica e fibrinolítica. Para tanto, foi utilizada a fermentação em estado sólido (FES), uma técnica reconhecida por sua eficiência e sustentabilidade, utilizando substratos agroindustriais como a borra de café e o farelo de trigo. Esta metodologia não só oferece uma alternativa econômica para a produção de enzimas de alto valor agregado, mas também contribui para a mitigação do impacto ambiental dos resíduos agroindustriais.

MATERIAIS E MÉTODOS

O fungo *Aspergillus ochraceus* foi cultivado utilizando a técnica de fermentação em estado sólido (FES). Foram utilizados como substratos uma mistura 1:1 de borra de café e farelo de trigo. A



fermentação foi conduzida em estufa a 30°C durante um período de 7 dias. Para a extração do líquido metabólico, foi utilizado tampão Tris-HCl pH 8, 0,1M com NaCl 0,15M na proporção de 7 mL por grama de substrato. As atividades enzimáticas foram determinadas utilizando diferentes substratos específicos: A determinação da atividade proteásica foi realizada segundo Ginter (1979); a atividade fibrinolítica foi avaliada de acordo com Wang et al. (2006), usando fibrinogênio como substrato e leitura a 275 nm; A determinação da atividade colagenolítica foi realizada pela metodologia modificada, descrita por Chavira et al. (1984).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O *Aspergillus ochraceus* demonstrou um potencial significativo para a produção de enzimas proteolíticas, fibrinolíticas e colagenolíticas, com atividades de 86,5 U/mL, 21,78 U/mL e 47,33 U/mL, respectivamente. Esses valores são promissores quando comparados a dados disponíveis na literatura para fungos filamentosos em condições similares àquelas utilizando FES.

A alta atividade proteolítica observada no *A. ochraceus* sugere que este fungo pode ser uma fonte eficiente de proteases para diversas aplicações industriais. Em comparação com outros estudos que utilizaram fungos filamentosos em FES, os resultados obtidos foram superiores, indicando que a combinação de borra de café e farelo de trigo como substrato fornece uma matriz rica em nutrientes, favorecendo a produção enzimática. Segundo Pérez et al. (2022) espécies de *Aspergillus* têm sido utilizadas para produzir enzimas pectinolíticas a partir de resíduos de café desidratados, atingindo atividade enzimática de 29,9 U/mL. Similarmente, Rocha et al. (2021), utilizou fermentação em estado sólido com *Aspergillus sydowii* produziu uma protease com atividade máxima de 352,0 U/ml, demonstrando o potencial de recuperação enzimática da borra de café, e de fungos do gênero *Aspergillus* de atuarem nesta biotransformação.

Além disso, a atividade fibrinolítica demonstrada pelo *A. ochraceus* foi significativa, destacando seu potencial uso na indústria farmacêutica, especialmente no desenvolvimento de agentes trombolíticos. A capacidade de degradação de fibrina deste fungo é comparável a outras fontes microbianas relatadas na literatura, mas com a vantagem adicional de ser produzido em um sistema de FES mais econômico e sustentável. Osmolovskiy et al. (2016) vem desenvolvendo estudos que contribuem para a distinção desta espécie como produtor de protease fibrinolítica, corroborando com o presente trabalho. Já atividade colagenolítica também apresentou resultados promissores, sugerindo que o *A. ochraceus* pode ser explorado para a produção de colagenases de aplicação cosmética e médica. A capacidade de degradação do colágeno pode ser particularmente útil na formulação de produtos para tratamento de pele e na engenharia de tecidos (Oliveira et al., 2017).

Os resultados sugerem que o método de FES utilizando borra de café e farelo de trigo não só é eficaz para a produção de proteases, mas também contribui para a valorização de resíduos agroindustriais. Esse método de produção apresenta vantagens ambientais e econômicas, alinhando-se com os princípios da biotecnologia sustentável (Santos et al., 2018)

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conclui-se que o fungo *Aspergillus ochraceus* é um microrganismo promissor para a produção de proteases, particularmente aquelas com atividades fibrinolíticas e colagenolíticas. A utilização da fermentação em estado sólido (FES) com substratos como borra de café e farelo de trigo mostrou ser uma abordagem eficaz e sustentável para a produção de enzimas de interesse farmacêutico. No entanto, para futuras aplicações, é essencial o aperfeiçoamento das condições de produção, bem como a purificação e caracterização das enzimas produzidas. Por fim, este estudo reforça a importância da exploração de recursos biotecnológicos a partir de resíduos agroindustriais, contribuindo para o desenvolvimento de processos mais sustentáveis e economicamente viáveis. Estudos futuros focarão na otimização das condições de fermentação e na análise detalhada das propriedades bioquímicas das enzimas obtidas.



PALAVRAS-CHAVE: Protease fibrinolítica. Protease collagenolítica. Fungos filamentosos. Fermentação em estado sólido.

AGRADECIMENTOS

A realização deste trabalho só foi possível graças ao apoio financeiro e institucional das agências de fomento CAPES e FACEPE.

Referências

- CHAVIRA R, BURNETT TJ, HAGEMAN JH. Assaying proteinases with azocoll. *Anal Biochem* 1984;136:446–50. doi:10.1016/0003-2697(84)90242-2.
- FRANCO, D. T., ALBERTO, Daniel; LUJÁN, María. Production of plant proteases and new biotechnological applications: an updated review. *ChemistryOpen*, v. 11, n. 3, p. e202200017, 2022.
- GINTHER CL. Sporulation and the Production of Serine Protease and Cephamycin C by *Streptomyces lactamdurans*. *Antimicrob Agents Chemother*, 15(4), 1979, 522-526.
- HAZARE, Chinmay *et al.* Diverse origins of fibrinolytic enzymes: A comprehensive review. *Heliyon*, 2024.
- JAMAL, Ghadir A. *et al.* Proteases, a powerful biochemical tool in the service of medicine, clinical and pharmaceutical. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*, p. 1-25, 2024.
- OLIVEIRA, Jakson Martins de. Géis de colágeno e gelatina do resíduo da tilápia (*Oreochromis niloticus*) para incorporação e liberação controlada in vitro da astaxantina. 2017.
- OSMOLOVSKIY, A. A. *et al.* Fibrinolytic and collagenolytic activity of extracellular proteinases of the strains of micromycetes *Aspergillus ochraceus* L-1 and *Aspergillus ustus* 1. *Moscow University Biological Sciences Bulletin*, v. 71, p. 62-66, 2016.
- PÉREZ, Jimmy *et al.* Multi-objective statistical optimization of pectinolytic enzymes production by an *Aspergillus* sp. on dehydrated coffee residues in solid-state fermentation. *Fermentation*, v. 8, n. 4, p. 170, 2022.
- ROCHA, Felype TB *et al.* Purification and characterization of a protease from *Aspergillus sydowii* URM5774: Coffee ground residue for protease production by solid state fermentation. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v. 93, n. suppl 3, p. e20200867, 2021.
- SANTOS, Priscila Souza dos *et al.* Fermentação em estado sólido em resíduos agroindustriais para a produção de enzimas: uma revisão sistemática. 2018.
- SONG, Peng *et al.* Microbial proteases and their applications. *Frontiers in Microbiology*, v. 14, p. 1236368, 2023.
- WANG, S., WU, Y., LIANG, T. Purification and biochemical characterization of a nattokinase by conversion of shrimp shell with *Bacillus subtilis* TKU007. *New Biotechnology*, v. 28, p.2, 2011.
- ZHANG, Kui; HAN, Yapeng. Thermostable Bacterial Collagenolytic Proteases: A Review. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 34, n. 7, p. 1385, 2024.