

## Triagem química de *Penicillium* coaguladores de leite: detecção de roquefortina C por espectrometria de massas de inserção direta

Marjory Michely Martins de Souza<sup>1</sup>, Rosangela Lobo Moreira<sup>2</sup>, Afonso Duarte Leão de Souza<sup>3</sup>, Antonia Queiroz Lima de Souza<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Laboratório de Bioensaios e Microrganismos da Amazônia (LaBMicrA – UFAM), Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia - Rede BIONORTE (PPG – BIONORTE), Universidade do Estado do Amazonas (UEA).

<sup>2</sup>Laboratório de Cromatografia e Espectrometria de Massas (LABCEM - UFAM), Programa de Pós-Graduação em Química (PPGQ – UFAM), Universidade Federal do Amazonas (UFAM).

<sup>3</sup>Laboratório de Cromatografia e Espectrometria de Massas (LABCEM – UFAM), Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia - Rede BIONORTE (PPG – BIONORTE), Universidade Federal do Amazonas (UFAM).

Fungos do gênero *Penicillium* apresentam potencial de coagulação do leite, característica essencial para a fabricação de queijos e derivados. Alternativas microbianas vêm sendo buscadas como substitutas aos coagulantes de origem animal, entretanto, algumas espécies podem produzir metabólitos tóxicos, como a roquefortina C, um alcaloide indólico que representa preocupação de segurança alimentar, embora também desperte interesse biotecnológico e farmacêutico. O presente estudo teve como objetivo avaliar a atividade coagulante e verificar a presença de roquefortina C em extratos de diferentes linhagens de *Penicillium*. Foram analisadas dez linhagens do acervo do LaBMicrA-UFAM: *Penicillium glabrum* (LaBMicrA-404), *Penicillium rubens* (LaBMicrA-403, LaBMicrA-154 e LaBMicrA-392), *Penicillium oxalicum* (LaBMicrA-407), *Penicillium citrinum* (LaBMicrA-457), *Penicillium paxilli* (LaBMicrA-135), *Penicillium adametzii* (LaBMicrA-056) e *Penicillium sumatraense* (LaBMicrA-415). As linhagens, preservadas em glicerol 20%, foram reativadas e purificadas em meio BDA (Ágar Batata Dextrose) por 3-5 dias a 26 °C. Em seguida, prepararam-se suspensões de conídios em glicerol 20% para inoculação em cultivo submerso (CS) que foi realizado em frascos contendo 15 mL de solução Manachini, com 5 µL da suspensão de conídios e incubados a 28 °C por 5 dias em incubadora shaker (120 rpm). Após esse período, o cultivo foi filtrado em papel Whatman nº 1 seguido de membrana Millipore 0,22 µm. O caldo obtido foi considerado extrato bruto enzimático (EBE) e armazenado a -20 °C até os ensaios. Para o ensaio da Atividade Coagulante de Leite (ACL), 1,5 mL de leite foi pré-aquecido a 40 °C por 10 min, seguido da adição de 150 µL do EBE. A ACL foi medida por *International Milk-Clotting Units* (IMCU/mL). Todos os ensaios feitos em triplicata. Para a triagem química, os EBEs foram particionados em AcOEt, as frações orgânicas concentradas e

ressuspendidas em MeOH e seu perfil químico obtido por inserção direta em Espectrômetro de Massas tipo *ion trap* com sonda ESI. Todas as linhagens apresentaram ACL, variando de 139,5 a 387,1 IMCU/mL. Os maiores valores foram obtidos em *P. glabrum* (LaBMicrA-404) (387,1 IMCU/mL) e *P. rubens* (LaBMicrA-403) (375 IMCU/mL). A análise química revelou sinais característicos da roquefortina C,  $[M+H]^+$  de  $m/z$  390 ou  $[M+Na]^+$  de  $m/z$  412, no espectro de massas de todas as linhagens, exceto as mais ativas, *P. glabrum* (LaBMicrA-404) e *P. rubens* (LaBMicrA-403). Em conclusão, *Penicillium* demonstrou potencial para a produção de enzimas coagulantes, porém o espectro de massas sugere que algumas linhagens produzam roquefortina C. Estudos adicionais são necessários para confirmar a segurança e viabilidade industrial dos extratos.

**Palavras-Chave:** Queijo, Fungo, Micotoxinas, Perfil Químico e Alimentos.

Agradecimento à FAPEAM pelo apoio concedido por meio da bolsa de fomento.