



## USO DE SEMENTES DE *GLIRICIDIA SEPIUM* COMO MEIO DE CULTURA PARA A PRODUÇÃO DE PROTEASES DE INTERESSE TERAPÊUTICO

**DO COUTO, Milena Tereza Torres**<sup>1</sup>

Graduanda em Farmácia

**DA SILVA, Aníbia Vicente**<sup>2</sup>

Doutoranda em Biotecnologia Industrial

**NASCIMENTO, Thiago Pajeú**<sup>3</sup>

Doutor em Biologia Aplicada a Saúde

**OLIVEIRA, José de Paula**<sup>4</sup>

Doutor em Microbiologia e Bioquímica do Solo

**PORTO, Ana Lúcia Figueiredo**<sup>5</sup>

Doutora em Engenharia Química

### RESUMO

A aplicação terapêutica de proteases tem atraído as indústrias farmacêuticas nos últimos anos devido à atividade catalítica dessas enzimas. Elas são capazes de permitir o uso de menores doses para tratamentos, tendo assim uma maior eficácia, redução dos efeitos colaterais, manutenção dos benefícios terapêuticos desejados e redução dos custos de obtenção. Meios de cultura para produção de proteínas devem conter fontes adequadas de nitrogênio e carbono, para que possam promover a obtenção adequada de biomoléculas. Dessa forma, esse estudo propõe-se a obter um meio de cultura utilizando as sementes de leguminosa *Gliricidia sepium* como fonte de nitrogênio, promovendo desse modo um crescimento satisfatório de uma bactéria produtora de proteases. As sementes da leguminosa *Gliricidia sepium* foram trituradas e incorporadas ao meio MS-2 substituindo a fonte de nitrogênio farinha de soja pelas sementes de *G. sepium*. Para a determinação do teor de nitrogênio (N), sódio (Na) e potássio (K) totais das sementes de *Gliricidia sepium* foi utilizado o método Kjeldahl para o primeiro e espectrofotometria de chama para os dois seguintes. Foi utilizado o *Paenibacillus graminis* MC 2213 como bactéria produtora de protease, esse microrganismo foi isolado do solo de plantações de cana de açúcar, sendo inoculado na concentração de  $10^8$  UFC/mL nesse meio MS-2 modificado. Os erlenmeyers contendo o inóculo foram então incubados sob agitação de 160 rpm a 29°C por 216h, sendo retirados alíquotas da fermentação a cada 24 horas e o seu conteúdo centrifugado a 5000 rpm por 15 min. O sobrenadante foi então denominado de extrato bruto e utilizado para a determinação da atividade proteásica e determinação da quantificação de proteína. Na composição das sementes de *G. sepium*, o N representou 8,27%, Na (0,016%) e K (0,748%), segundo a literatura para cada 100 g de sementes há 32,47 g de proteínas. Foi observado

<sup>1</sup> Universidade Federal De Pernambuco, Recife-Pernambuco, torresc.milena@gmail.com

<sup>2</sup> Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife-Pernambuco, anibia\_v@yahoo.com.br

<sup>3</sup> Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife-Pernambuco, thiago\_pajeu@hotmail.com

<sup>4</sup> Instituto Agrônômico de Pernambuco, Recife-Pernambuco, jose.paula@ipa.br

<sup>5</sup> Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife-Pernambuco, analuporto@yahoo.com.br

que o *P. graminis* MC 2213 cresceu bem sobre o meio MS-2 modificado com a incorporação das sementes, a produção de protease por *P. graminis* MC 2213 durante a fermentação variou de 8.86 U/mL a 15.9 U/mL, provando que havia carbono e nitrogênio disponíveis o suficiente para a produção destas enzimas. Quanto a dosagem de proteína, esta seguiu a resposta da curva de crescimento do microrganismo, no tempo de 0 hora havia a concentração de 0.609 mg/mL de proteína e ao fim do processo de fermentação a concentração foi para 0.255 mg/mL. O melhor tempo de fermentação foi de 96 horas com atividade proteásica de 15.9 U/mL. Portanto o meio de cultura modificado pela adição de sementes de *G sepium* como fonte de nitrogênio teve a capacidade de favorecer o crescimento de *P. graminis* resultando na produção de proteases.

**Palavras-chave:** *Gliricidia sepium*; Meio de Cultura; Proteases; leguminosa; *Paenibacillus*.