

## Caracterização das enzimas celulases e xilanases produzidas por fermentação semi-sólida

Marcel L. Moitas<sup>1</sup>; Cristiane S. Farinas<sup>2</sup>; Victor Bertucci Neto<sup>2</sup>; Sonia Couri<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Aluno de Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP;

<sup>2</sup>Pesquisador(a), Embrapa Instrumentação Agropecuária, São Carlos, SP;

<sup>3</sup>Pesquisadora, Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ.

A biomassa lignocelulósica constitui uma alternativa para a produção de etanol de segunda geração e, nesse sentido, o Brasil apresenta um alto potencial, tendo em vista a quantidade de resíduos agroindustriais gerados. A utilização da rota enzimática para a produção de açúcares fermentescíveis a partir da biomassa vegetal, apesar do menor impacto ambiental, esbarra em dificuldades técnicas e econômicas, inclusive no alto custo de produção das enzimas hidrolíticas (as celulases e xilanases). Além do desenvolvimento de processos de fermentação otimizados para a produção de enzimas em escala industrial, para garantir a viabilidade econômica da aplicação da rota enzimática na produção de etanol celulósico é fundamental a produção de extratos de alta atividade enzimática e alta estabilidade. O extrato enzimático produzido por uma linhagem do fungo filamentosso *A. niger* foi caracterizado quanto a termo-estabilidade, influência dos parâmetros físico-químicos temperatura e pH por meio de um planejamento fatorial 2<sup>2</sup> completo e pela estimativa dos parâmetros cinéticos  $K_m$  e  $V_{max}$  das endoglucanases. O perfil protéico foi obtido por eletroforese SDS-PAGE. Quanto a termo-estabilidade, a enzima CMCase apresentou tempo de meia-vida ( $t_{1/2}$ ) superior a 96 horas a 37 °C, e entre 48 e 72 horas a 50°C. A xilanase apresentou  $t_{1/2}$  superior a 96 horas a 37°C, e entre 72 e 96 horas a 50°C Na faixa estudada, as variáveis pH e temperatura, bem como o efeito de interação, se mostraram estatisticamente significativos ( $p < 0,1$ ). Os coeficientes de correlação para as enzimas CMCase e xilanase ( $R^2 = 0,906$  e  $0,804$ , respectivamente) e o teste F a 90% de confiança (5,77 e 2,52 vezes o valor de  $F_{tabelado}$  para CMCase e xilanase, respectivamente) mostraram-se satisfatórios para a predição de um modelo matemático que descreve o efeito dessas variáveis sobre a atividade enzimática. Os parâmetros  $V_{max}$  e  $K_m$  das endoglucanases, estimados fora das condições ótimas de pH e temperatura, foram respectivamente  $4,22 \text{ mmol.L}^{-1}.\text{min}^{-1}$  e  $40 \text{ g.L}^{-1}$ , o que indica uma baixa afinidade pelo substrato. O alto valor de  $K_m$  pode estar relacionado à presença de mais de uma enzima capaz de degradar CMC. O perfil protéico em gel de poliacrilamida revelou que a maioria das proteínas no extrato tem massa molecular entre 20.1 e 94.0 KDa. A estabilidade térmica nas condições testadas mostrou-se promissora tanto para o armazenamento do extrato (na condição de 37°C) quanto para a aplicação dessas enzimas em processos de produção de etanol celulósico.

**Apoio financeiro:** CNPq e Embrapa.

**Área:** Agroenergia