

RESPOSTA DAS CELULASES PRODUZIDAS POR MACROFUNGOS AO MÉTODO DE CONCENTRAÇÃO ENZIMÁTICA

Hayssa Carolini Alamar Nunes; Lorena Benathar Ballod Tavares; Elis Ganzer; Cristiane Vieira Helm

Resíduos lignocelulósicos são matérias-primas usuais da produção de etanol de segunda geração, desde que seja efetuada uma etapa de hidrólise para a liberação de glicose, empregando-se enzimas comerciais. Muitas dessas enzimas são produzidas por fungos, e para aumentar sua eficiência estudos de otimização da produção, da concentração e da purificação das enzimas, tem sido elaborados. Baseado nesse contexto, este estudo propõe uma metodologia de concentração de extratos fúngicos obtidos do cultivo de *Trichoderma sp*, *Ganoderma lucidum* isoladamente e em cultura mista, em resíduo triturado de pupunha. O processo de concentração das enzimas foi composto por quatro etapas intercaladas por um período de repouso de 1 hora a -20°C com posterior centrifugação a 6000 rpm. A 1^a etapa foi constituída da adição de tampão 0,1M de acetato de amônio em metanol no extrato (40 mL de tampão para 10 mL de extrato). Na 2^a etapa foi realizada a retirada do tampão e adição de 40 mL de metanol 80% junto ao precipitado. Na 3^a etapa houve a retirada do metanol e adição de 40 mL de acetona 80% no precipitado e retirada da acetona. Por fim na 4^a etapa o precipitado permaneceu com sílica por dois dias na geladeira para posterior ressuspensão com tampão fosfato pH 7,5. Foram quantificadas as celulases, Endoglucanase (CMCase) e Exoglucanase (Avicelase) pelo método de DNS e as proteínas totais pelo método de Bradford antes e depois da concentração. Observou-se o aumento de proteínas depois da concentração, principalmente para os extratos de *Trichoderma sp*, onde o melhor resultado foi de 4,16 mg/L para 276,22 mg/L, aumentando 66 vezes. Quanto às celulases, houve queda da atividade, principalmente para no *G. lucidum*. A maior queda de atividade enzimática para esse fungo foi de $0,51 \text{ UmL}^{-1}$ para $0,07 \text{ UmL}^{-1}$, diminuindo 86% para a CMCase e de $0,62 \text{ UmL}^{-1}$ para $0,22 \text{ UmL}^{-1}$, diminuindo 65% para a Avicelase. Os resultados indicam que o método de concentração usado não foi eficiente para aumentar a atividade das celulases, todavia, pode ser empregado para a concentração de demais proteínas.