

Seleção de meio de cultivo para produção de celulasas por *Aspergillus niger* 3T5B8 em fermentação submersa e comparação entre linhagens mutantes e parental

Simone A. Serra^{1*}; Christian M. Tomm¹; Jhéssica C. Araújo¹; Thais D. Mendes²; Léia C. L. Favaro²; Mônica C. T. Damaso²

Introdução

Celulasas são enzimas que constituem um complexo capaz de atuar sobre materiais celulósicos, promovendo sua hidrólise. Estas enzimas são biocatalisadores altamente específicos que atuam em sinergia para a liberação de glicose, que pode ser convertida em etanol de segunda geração e em outros químicos (CASTRO; PEREIRA, 2009). *Aspergillus niger* é um fungo filamentosos septado e hialino, sendo uma das espécies frequentemente utilizadas para produção de celulasas. O processo de mutação clássica pode ser utilizado para melhorar os níveis de atividade enzimática produzidos por microrganismos (FÁVARO; POLETTI, 2013). No projeto ao qual este trabalho está inserido estão sendo realizadas mutações em linhagem de *Aspergillus niger* 3T5B8, previamente selecionada para produção de poligalacturonase, utilizando o agente físico ultravioleta e o químico, etilmetanossulfonato. O objetivo deste trabalho foi selecionar uma fonte de carbono adequada para produção de celulasas pela linhagem parental *A. niger* 3T5B8, por fermentação submersa, visando comparar a produção da enzima por linhagens mutantes com a parental.

Métodos

A produção das enzimas para seleção de meio de cultivo foi realizada utilizando-se a linhagem parental *A. niger* 3T5B8. Para a avaliação da melhor fonte de carbono para a produção de enzimas celulolíticas, ao meio basal proposto por Pinto (1998) foram adicionados quatro diferentes fontes de carbono: Bagaço de cana-de-açúcar, Avicel, Carboximetilcelulose e Capim-elefante. O meio de cultura foi inoculado com suspensão de conídios (1x10⁶ conídios/mL de meio de cultura) e a produção das enzimas conduzida sob agitação de 200 rpm a 30°C. Após 72, 120 e 168h de fermentação, amostras foram retiradas

1 Universidade de Brasília, Campus Universitário Darcy Ribeiro, CEP 70910-900, Brasília-DF, Brasil.

2 Embrapa Agroenergia, PqEB, Av. W3 Norte (final), Brasília/DF, Brasil, 70770-901;

*simone.serra@colaborador.embrapa.br; monica.damaso@embrapa.br

e as atividades enzimáticas de Endoglicanase, FPase e β -glicosidase foram determinadas seguindo métodos miniaturizados adaptados de Ghose (1987) e Xiao et al. (2004). O meio de cultivo selecionado foi utilizado para produção das enzimas pela linhagem parental e por duas linhagens mutantes, para fins de comparação. As duas linhagens mutantes utilizadas foram obtidas a partir de um segundo ciclo de mutagênese utilizando etilmetanossulfonato, partindo de linhagem selecionada no primeiro ciclo (ultravioleta).

Resultados e Conclusões

Dentre as fontes de carbono testadas para produção de celulasas pela linhagem parental 3T5B8 de *A.niger* observou-se que o extrato enzimático produzido utilizando-se bagaço de cana-de-açúcar foi o que apresentou maiores níveis de atividade. Após 120h de cultivo, foi obtido cerca de 0,6 U/mL de Endoglicanase e 0,9 U/mL de β -glicosidase. A atividade de FPase não foi detectada, nas condições testadas. Duas linhagens mutantes foram avaliadas para produção de celulasas utilizando o meio de cultivo selecionado, porém os níveis de atividade produzidos não foram superiores aos obtidos pela parental. Novos testes de produção serão feitos testando-se outras linhagens mutantes selecionadas.

Apoio Financeiro

Embrapa

Referências

- CASTRO, A. M. de; PEREIRA JUNIOR, N. Produção, propriedades e aplicação de celulasas na hidrólise de resíduos agroindustriais. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n. 1, p. 181-188, 2010.
- FAVARO, L. C. de L.; POLETTO, C. M. Bioprospecção e melhoramento genético de fungos para produção de enzimas aplicadas em biocombustíveis. In: MACHADO, C. M. M. (Ed.). **Microorganismos na produção de biocombustíveis Líquidos**. Brasília, DF: Embrapa Agroenergia, 2013. p. 35-79.
- GHOSE, T. K. Measurement of cellulase activities. **Pure and Applied Chemistry**, Oxon, v. 59, n. 2, p. 257-268, 1987.
- PINTO, G. A. S. **Produção de uma mistura hidrolítica por *Aspergillus niger* 3T5B8 em fermentação submersa**. 1998. 87 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ.
- XIAO, Z.; STORMS, R.; TSANG, A. Microplate-based filter paper assay to measure total cellulase activity. **Biotechnology and Bioengineering**, Hoboken, v. 88, n. 7, p. 832-837, 2004.