

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

Marcel L. Moitas¹; Cristiane S. Farinas²; Victor Bertucci Neto²; Sonia Couri³

¹Aluno de Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP;

²Pesquisador(a), Embrapa Instrumentação Agropecuária, São Carlos, SP;

³Pesquisadora, 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 2² 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 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