

PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO ELETROFORÉTICA DE EXTRATO CELULOLÍTICO PRODUZIDO POR LINHAGEM FÚNGICA

ALEX DA SILVA SANTOS, MÔNICA CAMEZ TRICHES DAMASO, SONIA COURI, LOURDES MARIA CORREA CABRAL, MARÍLIA PENTEADO STEPHAN

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO, BR465, KM 7, SEROPÉDICA, RJ, CEP 23890-000, EMBRAPA AGROINDÚSTRIA DE ALIMENTOS, AVENIDA DAS AMÉRICAS, 29501, GUARATIBA, RIO DE JANEIRO, RJ, CEP 23020-470 INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA, RIO DE JANEIRO, RUA SENADOR FURTADO, 121, MARACANÃ RIO DE JANEIRO, RJ, CEP 20270-021

Celulases são um complexo de enzimas que atuam de forma sinérgica sobre a hidrólise das ligações glicosídicas β -1,4 das moléculas de celulose, e possuem várias aplicações industriais como na formulação de ração animal, extração de óleos vegetais, maceração de frutas, fabricação de cerveja e vinho, entre outras. No entanto, ainda são pouco utilizadas na indústria nacional devido ao seu alto custo de produção. Dentro deste contexto, este trabalho teve como objetivo produzir e caracterizar um extrato enzimático celulolítico obtido por linhagem fúngica mutante de *Aspergillus niger*. Os experimentos abrangeram etapas de produção da enzima por fermentação semi-sólida em bandejas, seguido da determinação da atividade das celulases e enzimas correlatas presentes no extrato enzimático e análise por eletroforese em gel desnaturante (SDS-PAGE). O meio semi-sólido era composto por 40 g de meio obtido pela mistura de 100 g de farelo de trigo umedecido com 60 ml de solução de sulfato de sódio 0,91% em HCl 0,1N. Após 48h de incubação a 32 °C, foi realizada a extração das enzimas com tampão citrato de sódio 0,05M pH 4,8. O extrato apresentou atividade enzimática de xilanase, poligalacturanase e beta-glicosidase nas seguintes concentrações 75,6, 32,76 e 1,16 U/grama de massa seca, respectivamente. As atividades de carboximetilcelulase e celulase em papel de filtro não foram detectadas, provavelmente devido à uma baixa concentração dessas enzimas. A análise colorimétrica do extrato realizada seguindo método Bradford indicou uma alta intensidade de cor que corresponde à alta concentração de proteínas. Uma estratégia inicial fazendo precipitação com acetona ou etanol mostrou a precipitação de um material com baixa intensidade de cor indicativa de proteínas. Apesar das proteínas também precipitarem com acetona e etanol a presença de material glicídico presente no meio de fermentação provavelmente causou uma diluição do teor de proteína tendo como consequência uma baixa intensidade de cor indicativa de proteínas e ausência de aparecimento de bandas. Portanto, foi testada a estratégia de concentrar o material com sulfato de amônio (70%). Desta forma, pôde-se fazer uma purificação parcial das enzimas o que possibilitou a observação da presença de 16 cadeias polipeptídicas com massa molecular variando de 165 a 24,77 kDa. Destas 16 bandas observadas, cinco estão fortemente coradas e 11 apresentaram-se com baixa intensidade de cor. Estes resultados nos permitem sugerir que as bandas fortemente coradas podem estar relacionadas com enzimas que foram induzidas em resposta ao substrato utilizado no processo fermentativo em estudo.

Palavras-chave: Extrato enzimático, *Aspergillus niger*, eletroforese.