

Estudo da influência do pH tamponante na concentração por ultrafiltração dos extratos enzimáticos produzidos por fermentação em estado sólido

Daniel Carrero Botta¹; Fernanda Marisa da Cunha²; Camila Florencio³; Alberto Colli Badino Jr.⁴; Cristiane Sanchez Farinas⁵

¹ Aluno de graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP, daniel.botta@bol.com.br.

² Aluna de doutorado em Engenharia Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP.

³ Aluna de doutorado em Biotecnologia, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP.

⁴ Professor associado do Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP.

⁵ Pesquisadora, Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP.

A hidrólise é uma das etapas fundamentais para a produção de etanol celulósico, podendo ser conduzida através da utilização de enzimas hidrolíticas. No entanto, as enzimas comerciais apresentam elevado custo e por esta razão dificultam a viabilidade do processo. Nesse contexto, uma alternativa consiste na produção microbiana das celulasas e xilanasas, cujo extrato enzimático bruto obtido necessita ainda passar por etapas de purificação. Com o intuito de concentrar as enzimas presentes, de maneira a obter extratos enzimáticos estáveis e de elevada atividade, pode-se utilizar a ultrafiltração, que é uma operação promissora para a redução dos custos do processo. A eficiência da ultrafiltração está relacionada a diversos parâmetros, como fluxo volumétrico na alimentação, pressão transmembrana, tempo de operação, dentre outros. Neste trabalho, propõe-se o estudo da influência do pH na concentração dos extratos brutos por ultrafiltração, levando-se em conta a atividade das enzimas de interesse. Os extratos enzimáticos foram produzidos por fermentação em estado sólido (FES) de uma linhagem mutante do fungo *Aspergillus niger*, cujo substrato foi constituído de farelo de trigo enriquecido com solução de 0,91% de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ em HCl 0,1M. Os cultivos foram realizados em frascos Erlenmeyer com 10g de farelo em cada um. Para o inóculo, os esporos crescidos em gelose foram suspensos com o solvente tween 80, diluídos e contados em câmaras de Neubauer, adotando-se 10^7 esporos por grama de substrato. Os frascos com o meio inoculado foram tampados e mantidos em estufa a 32°C por 48 horas. Após diluição em tampão acetato de sódio com diferentes pHs, 30 minutos em incubadora com rotação de 120 rpm, 15 minutos em centrífuga rotativa a 4°C e 10000 rpm e posterior filtração à vácuo, os extratos obtidos foram ultrafiltrados em membrana de poliétersulfona do tipo "hollow fiber" com 115 cm² e diâmetro de corte de 10 kDa. Volumes de 250 mL foram submetidos a ensaios de ultrafiltração conduzidos com reciclo e sob as mesmas condições de fluxo volumétrico e pressão transmembrana. Coletou-se amostras em diferentes instantes de tempo até que a máxima concentração volumétrica fosse atingida, de acordo com as limitação do sistema utilizado. As amostras coletadas foram armazenadas em ultrafreezer e submetidas a análises de atividade de CMCase e xilanase, assim como da concentração de proteínas totais. O desempenho de cada operação foi avaliado em termos do fator de purificação e das porcentagens de recuperação de cada enzima. Dentre os valores de pH estudados (de 4,0 a 5,5), observou-se uma tendência crescente tanto do fator de purificação quanto das porcentagens de recuperação enzimática com o aumento do pH tamponante, sugerindo que o pH 5,5 é o mais indicado para a operação.

Apoio financeiro: Embrapa, Fapesp e CNPq.

Área: Agroenergia.