

099

PURIFICAÇÃO DE UMA β -1, 4-ENDO-MANANASE PRODUZIDA EM CULTIVOS SUBMERSOS. *Betina Lagemann, Deise Caron, Luis Henrique de Barros Soares, Marco Antonio Zachia Ayub (orient.) (UFRGS).*

As hemiceluloses são um grupo abundante e heterogêneo de polissacarídeos vegetais, quase sempre associadas à celulose e lignina na parede celular formando uma complexa estrutura em rede. A sua degradação é realizada por microrganismos encontrados na natureza ou no trato digestivo de certos animais, e requer a ação em conjunto de diversas enzimas. As galactoglicomananas estão entre os componentes principais da hemicelulose juntamente com as xilanas e arabinogalactanas. O interesse nas enzimas que degradam hemiceluloses vem crescendo em virtude de sua potencial aplicação nas indústrias de alimentos e de papel, pois são biocatalisadores que podem auxiliar na clarificação de sucos de frutas e na redução do uso de substâncias químicas cloradas utilizadas no branqueamento da polpa de celulose. Em uma coleção de microrganismos isolados em ambientes amazônicos identificou-se uma bactéria capaz de produzir mananases (EC 3.2.1.78) classificada como uma linhagem de *Bacillus circulans*. Utilizou-se a fibra de soja, um resíduo agro-industrial, como meio fundamental para crescimento em cultivo submerso. O extrato da cultura foi submetido à filtração convencional e então à filtração tangencial em membrana de corte molecular de 100 kDa (sendo separada a fração menor) e em seguida em membrana de corte de 10kDa para a concentração da amostra. Após esta etapa, a amostra foi aplicada em uma coluna cromatográfica com a resina hidrofóbica octyl-sepharose 4 FF pré-equilibrada com tampão tris-HCl de pH 8, 0 e sulfato de amônio 1, 5 M. A eluição foi feita em etapas de concentrações decrescentes do sal (eluição “stepwise”) a fim de se eliminar, com 0, 75 M de sal, a maior parte das proteínas ligadas. Após este passo a enzima é eluída na ausência de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Nestas condições recupera-se a enzima nas primeiras frações coletadas. Sua identidade foi comprovada por zimografia, apresentando peso molecular de 28 kDa, estimado por eletroforese em poliacrilamida. (PIBIC).