

Caracterização de β -glicosidase produzida por *Aspergillus niger* quanto ao pH e temperatura

Anderson Baraldo¹; Diogo Gontijo Borges², Cristiane Sanchez Farinas³; Paulo Waldir Tardioli⁴

¹Aluno de graduação em Engenharia Química, Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP, andersonbjunior@gmail.com ;

²Aluno de mestrado em Engenharia Química, Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP;

³Pesquisadora, Embrapa Instrumentação Agropecuária, São Carlos, SP;

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

O processamento enzimático para a hidrólise da celulose e produção de etanol, embora vantajosa no âmbito ambiental, ainda encara entraves econômicos e técnicos. O trabalho aqui exposto tem como principal contribuição a caracterização de uma das enzimas envolvidas na hidrólise da celulose, a β -glicosidase, em seu estado bruto e após a purificação, quanto ao pH e temperatura. Para tal avaliação foram consideradas temperaturas na faixa de 22,7 °C a 87,2 °C e valores de pH, compreendidos entre 2,4 e 6,6. O estudo do efeito das variáveis temperatura e pH foi realizado segundo um planejamento fatorial completo envolvendo as duas variáveis independentes citadas sobre as seguintes variáveis respostas: atividades enzimáticas e atividade específica, obtendo-se assim superfícies de respostas para a atividade em função de pH e temperatura. A região de máxima atividade, para a enzima no estado bruto, foi obtida através de uma superfície de resposta, obtendo-se valores de temperatura da ordem de 55 °C e pH 4,8. A estabilidade térmica da β -glicosidase, na ausência de substrato, foi avaliada em temperaturas de 37 e 50 °C pela medição da atividade enzimática residual durante 96h a cada 24h. A meia-vida da enzima foi calculada, obtendo 341,5h para 37 °C e 148,1h para 50 °C. O processo de purificação foi realizado em duas etapas: a pré-purificação, adsorção/dessorção das enzimas livres contidas no extrato enzimático bruto em matrizes de troca-iônica (MANAE-Agarose) e o processo de cromatografia de bioafinidade, adsorção em suporte Agarose-Celobiose ou Agarose-Glicose. A etapa de pré-purificação visa eliminar pequenas proteínas contaminantes do extrato bruto enzimático. Resultados preliminares mostraram que neste processo a atividade específica da enzima β -glicosidase aumentou de 7,70 para um valor de 20,11, obtendo assim um fator de purificação de 2,6, processo este que foi acompanhado por perfis peptídicos obtidos pelo HPLC. Foi realizada a cromatografia de bioafinidade, sendo controlada por proteínas, ensaios de atividade e análise pelo HPLC, obtendo-se uma imobilização de 20,1% da atividade total da enzima β -glicosidase. Espera-se com este trabalho a coleta de informações que permitirão a avaliação das características da enzima β -glicosidase e do seu comportamento em diferentes temperaturas e pH, antes e após a purificação, para caracterizar a sua ação sobre a biomassa vegetal e, assim, examinar a viabilidade de usá-la no processo de produção de bioetanol.

Apoio financeiro: Embrapa e Fapesp.

Área: Agroenergia