

Atividade enzimática para celulases de fungos isolados de compostagem da Fundação Parque Zoológico de São Paulo

David E. Quintero Jimenez¹ (PG), Suzan P. de Vasconcellos (PQ)², João B. da Cruz (PQ)³, André L. M. Porto^{1*} (PQ)

¹Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, Av. João Dagnone, nº 1100, J. Santa Angelina, 13563-120, São Carlos, SP, Brasil. e-mail: almporto@iqsc.usp.br

²UNIFESP, Departamento de Ciências Biológicas, Rua São Nicolau, 210 Centro, 09913-030, Diadema, SP

³Fundação Parque Zoológico de São Paulo, Av. Miguel Estéfano 4241, Água Funda, 04301-905, São Paulo, SP

Palavras Chave: Biomassa, Química Verde, Energia Renovável

Introdução

A biomassa, matéria primária e residual, é a principal fonte de recursos para a obtenção de alimentos, produtos químicos e combustíveis [1]. O Brasil tem destaque no cenário internacional devido os avanços na produção de etanol a partir do caldo de cana-de-açúcar (etanol de primeira geração), contudo pouco se investiu no desenvolvimento de tecnologias para a produção de etanol também a partir do bagaço de cana-de-açúcar (etanol de segunda geração).

Resultados e Discussão

Os fungos empregados no estudo foram isolados do processo de compostagem realizado pela Fundação Parque Zoológico de São Paulo (FPZSP). Tais isolados foram nomeados como FPZSP 119, 131, 138, 146, 148, 149, 150, 151 e 152.

Os fungos foram inoculados no meio de cultura sólido extrato de malte (tubos inclinados) (MEA). Os esporos (500 µL) formados foram inoculados em meio semissólido de farelo de trigo (pH 7, 32 °C) no período de 68, 91 e 125 h. Em seguida, o sobrenadante foi separado das células por centrifugação a 6000 rpm, por 10 min, 5 vezes. O caldo enzimático foi armazenado em refrigeração (4 °C, 5 d).

A partir do caldo foi realizada a determinação da atividade celulases totais (FPase) pelo método de DNS [2]. Para determinar a atividade enzimática de açúcares redutores utilizou-se uma tira de papel Whatman nº. 1 (1 x 6 cm) como substrato. A tira de papel em espiral foi colocada em tubos de ensaio contendo 2 mL de tampão de citrato de sódio (50 mmol/L, pH 4,8). Em seguida, 1 mL do extrato fúngico foi adicionado ao tubo de ensaio.

A solução resultante foi homogeneizada e mantida em banho-maria (50 °C) durante 60 min. Subsequentemente, os tubos foram arrefecidos e alíquotas de 1 mL de solução foram removidas e adicionou-se 3 mL de DNS e 1 mL de água destilada. A solução resultante foi submetida ao aquecimento (água em ebulição) durante 5 min e analisada em um espectrofotômetro (540 nm).

A curva analítica para a quantificação dos açúcares redutores foi obtida com diferentes concentrações de glicose (0, 10, 20, 30, 40, 50, 70, 90, 100 mg / 100 mL). A equação obtida foi: $y = 0,0469 + 0,0099x$ com coeficiente de correlação $R = 0,997$.

A Tabela 1 resume os dados das atividades enzimáticas com os fungos FPZSP 151 e FPZSP 148, que apresentaram os melhores resultados. Os resultados mostraram uma boa atividade enzimática para o fungo FZSP 151 em 68 h, mas com o aumento do tempo de reação, observou-se uma diminuição da capacidade enzimática. O mesmo perfil foi observado para a linhagem FZSP 148. Estudos estão sendo realizados para avaliar as atividades das celulases em substratos como cana-de-açúcar, sisal e carboximetilcelulose. A identificação das linhagens está sendo também realizada.

Tabela 1. Determinação da atividade enzimática para fungos isolados de compostagem pelo método DNS.

Código do Fungo	Tempo (h)	Absorbância (nm)	ci (mg/mL)	UI (U/mg)
FPZSP 151	68	0,981 ^a	178	113
FPZSP 151	91	0,940 ^a	90,2	81,2
FPZSP 151	125	0,462	41,9	25,2
FPZSP 148	68	0,905	86,7	52,4
FPZSP 148	91	0,323	27,9	16,7
FPZSP 148	125	0,148	10,2	6,13

ci: concentração obtida usando a curva analítica.

UI: $dxc(\mu\text{mol/mL}) \times V_{\text{Total}}/\text{tempo}$, onde d: fator de diluição, c: concentração, v: volume; UI: atividade enzimática.

Conclusões

Observou-se uma atividade enzimática satisfatória para o fungo FPZSP 151 em 68 h, o qual será utilizado em substratos derivados da biomassa.

Agradecimentos

Ao Núcleo de Apoio à Pesquisa da Universidade de São Paulo pelo projeto (NAP-USP).

À FAPESP e ao CNPq pelo apoio financeiro aos projetos do laboratório. A CAPES pela bolsa de Doutorado (DEQJ).

¹ Reyes, J.; Peralta-Zamora, P.; Durán, N. *Quím. Nova* 1998, 21, 140-143.

² Canilha, L.; Milagres, A.M.F.; Silva, S.S.; Silva, J.B.A.; Felipe, M.G.A., Rocha, G.J.M.; Ferraz, A.; Carvalho, W. *Revista Analytica* 2010, 44, 48-53.

³ MILLER, G. L. *Analytical Chem.* 1959, 31, 426-428.