

Metodologia alternativa para determinação de atividades de complexos enzimáticos celulásicos

Marcos H. L. Silveira (PG)¹, Larissa M. Bonatto(IC)¹, Martinho Rau (PG)¹, Carla Heidemann (IC)¹, Jürgen Andreus (PQ)^{1*}

¹Departamento de Química, Universidade Regional de Blumenau (FURB), 89010-971, Blumenau, SC.

*jandr@furb.br

Palavras Chave: Celulases, atividades, papel filtro.

Introdução

A caracterização de complexos celulásicos é "laboriosa" devido principalmente ao sinergismo das atividades endoglicanase (ataca aleatoriamente a cadeia celulósica), exoglicanase (ataca os terminais da cadeia celulósica) e β -glicosidase (transforma celobiose em glicose) presentes, necessitando uma variedade de substratos para a sua caracterização, como papel de filtro, carboximetilcelulose, hidroxietilcelulose, avicel e outros. No presente trabalho estudou-se a determinação (dosagem) das atividades exoglicanase e β -glicosidase "separadamente" da atividade endoglicanase usando apenas o método de papel de filtro (FPA).

Resultados e Discussão

A metodologia FPA foi realizada conforme Ghose¹ quantificando os açúcares redutores (AR) com a presença ou ausência de papel de filtro. A quantificação de açúcares redutores (AR) formados com a presença de papel de filtro é resultado de todas as três atividades celulásicas, enquanto os AR quantificados sem a presença de papel de filtro (no sobrenadante) indicam a atividade de exoglicanase e β -glicosidase. A diferença entre estes dois valores corresponde à quantidade de AR insolúveis formada e presente no papel de filtro, representando somente a atividade endoglicanase. Para a avaliação do método proposto, foram utilizadas as celulases CBH (atividade exoglicanase; enriquecida em atividade CBH contendo principalmente CBHI e CBHII), as celulases monocomponentes EG-I e EG-II enriquecidas (endoglicanases) e uma mistura bruta (TC: total crude), todas do fungo *Trichoderma reesei*, conforme apresentados na Figura 1.

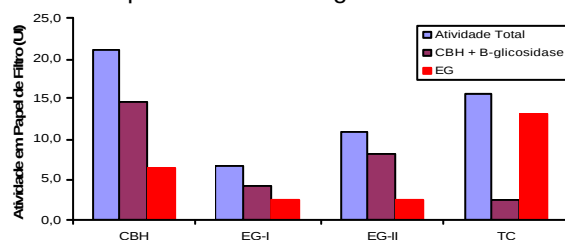


Figura 1. Avaliação do método para determinação das atividades endo e exoglicanases.

31^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química

A celulase CBH apresentou maior atividade exoglicanase, como esperado, mas também revelou atividade endoglicanase em menor quantidade. As celulases EG-I e EG-II apresentaram maior atividade exoglicanase que atividade endoglicanase. Como celulases EGs necessitam de agitação para aumentar a atividade, isto pode explicar uma maior atividade exoglicanase presente nas mesmas. A TC apresentou maior atividade endoglicanase. Avaliou-se também o comportamento do complexo celulásico do fungo *Penicillium echinulatum*, mostrado na Figura 2.

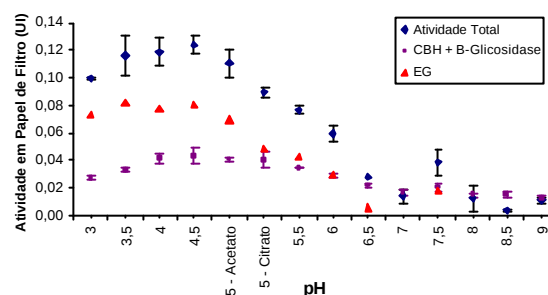


Figura 2. Comportamento do complexo celulásico de *P. echinulatum*.

Por este método, confirma-se que o complexo celulásico de *P. echinulatum* apresenta maior atividade de endoglicanase (EG) que atividade exoglicanase (CBH), conforme dados da literatura³.

Conclusões

Os resultados obtidos mostram que é possível avaliar separadamente as atividades de endo e exoglicanases de complexos celulásicos usando apenas o método FPA como substrato. Ainda é necessário avaliar neste método a importância do efeito de agitação na determinação da atividade das endoglicanases.

Agradecimentos

CNPq, Capes, FINEP, FURB

¹ Ghose, T. K.; *Pure & Applied. Chemistry* **1987**, No 2, 257-268.

² Y.-H. Percival Zhang; Y.-H. Percival Zhang; Jonathan R. Mielenz. *J. Biotechnology Advances*. **2006**, 24, 452-481.

³Camassola, M. et al. *Biocatalysis and Biotransformation*, **2004**, 22, 391. Martins, L F et al. *Bioresource Technology*. **2008**, 99, 1417.