

Efeito de um surfactante não iônico na estabilidade de celulases do *Trichoderma reesei*

Larissa da Silva (PG), Marcos H. L. Silveira (PG), Rodrigo S. Aguiar (IC), Luiz Pereira Ramos (PQ)*. luiz.ramos@ufpr.br

¹ Centro de Pesquisa em Química Aplicada (CEPESQ). Departamento de Química, Universidade Federal do Paraná – UFPR; Curitiba-PR, Brasil.

Palavras Chave: celulases, hidrólise, surfactante, atividade catalítica, papel filtro.

Introdução

Celulases têm recebido muita atenção nos últimos 50 anos pela sua aplicação na indústria alimentícia, têxtil e, mais recentemente, na produção de etanol celulósico. A produção de etanol de segunda geração envolve 4 etapas principais: pré-tratamento, hidrólise enzimática, fermentação e purificação do etanol. A hidrólise enzimática da celulose ocorre por pelo menos 48 horas a temperaturas de 45 ou 50°C, exigindo boa estabilidade térmica do preparado enzimático. Além da engenharia genética, o uso de aditivos pode reduzir significativamente a quantidade de catalisador necessária para o processo, o que implica em melhorias na estabilidade e no desempenho enzimático. No caso das celulases, os surfactantes não iônicos merecem destaque por potencializar a eficiência do processo hidrolítico³. Os surfactantes não iônicos interagem com esta classe de enzimas tanto por interações hidrofóbicas, através dos resíduos de aminoácidos aromáticos presentes na estrutura protéica, como também por interações hidrofílicas, nos grupamentos amida¹. Neste trabalho, foram realizados experimentos para verificar o efeito do surfactante não iônico Lutensol ON70 na estabilidade enzimática.

Resultados e Discussão

O efeito de diferentes concentrações do surfactante Lutensol ON70 (0; 0,5; 1; 2 e 20 g.L⁻¹) foi avaliado em relação à estabilidade de uma mistura de Celluclast 1.5L e Novozym 188 (Novozymes) contendo 0,7 FPU.mL⁻¹. A solução enzimática (50 mL) foi mantida sob agitação de 100 rpm a 50°C, pH 4,8 (tampão acetato) por 72 h e dela foram retiradas várias alíquotas de 1 mL, cujas atividades foram determinadas em diluição 1:1 contra 70 mg de papel filtro Whatman n.º.1 segundo Ghose³. O rendimento de hidrólise foi monitorado pela liberação de açúcares redutores totais (ART) após 60 min de hidrólise. A reação foi interrompida com a adição de 3 mL de ácido-3,5-dinitrosalicílico (DNS), seguido de fervura das amostras por 5 min para quantificação dos ART. A Figura 1 apresenta a variação do potencial de sacarificação das enzimas, associada ao uso de diferentes concentrações de surfactante.

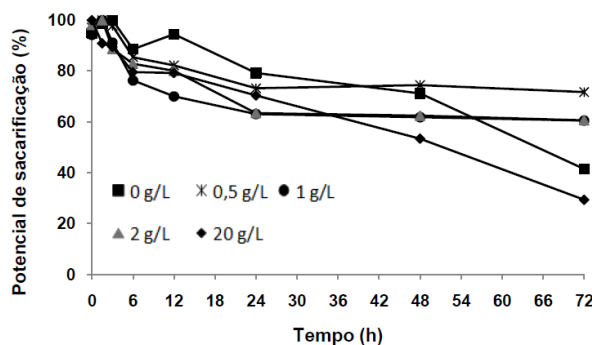


Figura 1. Estabilidade de celulases mediante contacto com o surfactante Lutensol ON70.

A Figura 1 mostra que concentrações muito altas do surfactante (20 g.L⁻¹) apresentam inibição da atividade enzimática a partir de 12 h de incubação, com potencial de sacarificação inferior ao da enzima sem o aditivo. Isto pode ser explicado pelas propriedades tensoativas do surfactante que, em excesso, inibem a ação enzimática através de uma provável desestabilização conformacional das enzimas². As concentrações de 1 e 2 g.L⁻¹ se diferenciaram significativamente até 12 h e, a partir daí, praticamente se igualaram. Porém, ao longo das 72 h, estas apresentaram menor potencial de sacarificação em comparação à concentrações inferiores de Lutensol (0,5 g.L⁻¹).

Conclusão

A presença de Lutensol ON70 em quantidades moderadas manteve o potencial de sacarificação praticamente constante entre 24 e 72 h de incubação. O uso do surfactante em excesso causa a perda de atividade enzimática, ao invés de minimizar perdas associadas a fenômenos de cisalhamento ou de desnaturação térmica. Sendo assim, foi possível determinar a faixa de concentração de maior estabilidade das enzimas para futuros ensaios de hidrólise.

Agradecimentos

CNPq, UFPR, Novozymes, Fundação Araucária.

¹ Tjerneld, F.; Erksson, T.; Börjesson J. *Enzyme Microb Technol.* **2002**, 31, 353-364.

² Zhang, Y.; Zhang, Y.; Tang L. *J. Chem Technol Biotechnol.* **2010**, 86, 115-120.

³ Ghose, T.K. *Pure and Applied Chemistry*, **1987**, 59, 257-268.