

# DETERMINAÇÃO DE TEMPERATURA ÓTIMA PARA ATUAÇÃO SINÉRGICA DE ENZIMAS DO COMPLEXO CELULOLÍTICO SECRETADAS POR 3 *Aspergillus ssp.* ISOLADOS NO CERRADO BRASILEIRO

**LIMA, C. G.<sup>1</sup>; NASCIMENTO, J. P. L.<sup>2</sup>; CASTRO, C. F. S.<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>Estudante de Iniciação Científica – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Câmpus Rio Verde - GO. [cleolimaramos@gmail.com](mailto:cleolimaramos@gmail.com); <sup>2</sup>Colaborador – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Câmpus Rio Verde; <sup>4</sup>Orientador – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Câmpus Rio Verde - GO. [carlosfscastro@gmail.com](mailto:carlosfscastro@gmail.com)

**RESUMO:** A utilização de enzimas em indústrias tem aumentado nos últimos anos em várias áreas, uma de suas vantagens é o aumento do rendimento do produto gerado, o aumento de sua utilização deve-se à sua alta especificidade e vantagens em relação aos catalisadores inorgânicos. Em altas temperaturas as enzimas sofrem desnaturação, dependendo do pré-tratamento a temperatura ótima pode variar. Para se estabelecer a temperatura de ensaio adequada para diferentes enzimas, a dependência da temperatura da sua atividade devem ser analisadas. Este trabalho teve como objetivo determinar a temperatura ótima para atividade sinérgica de enzimas do complexo celulolítico à 50, 60, 70 e 80°C, estas, secretadas em fermentação submersa de bagaço de cana-de-açúcar por 3 espécies distintas de *Aspergillus*. Notou-se maior degradação do substrato com caldo enzimático de *Aspergillus brasiliensis* FLQT1-1 e *Aspergillus niger* FLQT4-1 em 50°C e de *Aspergillus fumigatus* FLQT3-2 em 60°C.

**Palavras-chave:** celulase, enzimas, biocombustível, temperatura.

## INTRODUÇÃO

A pesquisa sobre enzimas constitui a maior parte da história da bioquímica, em 1700 a catálise biológica foi reconhecida e descrita, mas foi em 1897 que Eduard Buchner descobriu que os extratos de levedura podiam fermentar o açúcar até álcool, provando que a fermentação era promovida por moléculas que continuavam funcionando mesmo quando removidas das células. Frederick W. Kuhne denominou essas moléculas de enzimas. (LEHNINGER, 2002)

A temperatura e o pH são um dos principais fatores a serem considerados em ensaios enzimáticos, assim como a força iônica e as concentrações apropriadas dos componentes essenciais. A padronização desses parâmetros seria o ideal, porém a diversidade das características das diferentes enzimas impede uma unificação das condições de ensaio. (BISSWANGER, 2014).

O presente trabalho teve como objetivo determinar a temperatura ótima de atividade das enzimas secretadas de três espécies distintas de *Aspergillus*, avaliando a

capacidade de conversão de papel Whatman nº1 em Açúcares Redutores Totais.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os microrganismos utilizados foram isolados por pesquisadores do grupo de pesquisas Química Tecnológica (QTec) do Instituto Federal Goiano - Campus Rio Verde, e foram utilizadas três espécies de *Aspergillus*. O caldo enzimático bruto foi obtido na inoculação dos fungos em meio basal (Mandels & Weber, 1969) com 1g de bagaço de cana autoclavado a 1 atm à 121°C por 20 minutos.

A atuação do complexo enzimático foi realizado adaptando-se o protocolo para avaliação da atividade celulolítica total proposto por Ghose (1987) pela degradação do papel de filtro Whatman nº1, os ensaios foram repetidos com as três espécies, realizados em triplicatas nas temperaturas de 50, 60, 70 e 80°C. A capacidade de degradação do substrato foi determinada através da quantidade de açúcares redutores totais liberados (Miller, 1959).

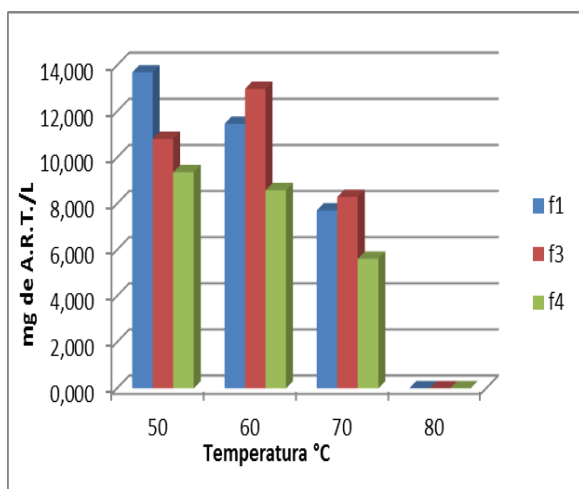
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos estão representados na figura 1, que demonstram a melhor atuação *Aspergillus brasilienses* FLQT1-1 e *Aspergillus niger* FLQT4-1 em 50°C e da espécie *Aspergillus fumigatus* FLQT3-2 em 60°C, sendo que a primeira *Aspergillus brasilienses* FLQT1-1 apresentou o melhor desempenho. É interessante destacar que o complexo enzimático do *Aspergillus fumigatus* FLQT3-2 apresentou um máximo de sua atividade a 60°C, indicando uma maior estabilidade térmica da mesma.

Pode ser observado também que acima da temperatura ótima ocorre um declínio na atividade, Bisswanger (2014) afirma que com o aumento da temperatura a velocidade de uma reação aumenta e isso também se aplica às enzimas, porém, devido sua estrutura tridimensional, a enzima é termo-sensível, ocasionando sua desnaturação a altas temperaturas e eliminando a sua atividade.

Na temperatura de 80°C não há registro de atividade, fato que se justifica pela termo-sensibilidade das enzimas presentes no caldo enzimático, que provavelmente perdeu sua atividade biológica por desnaturação.

**Figura 1- Representação gráfica da temperatura de degradação de papel Whatman por *Aspergillus***



## CONCLUSÃO

Neste experimento foi possível identificar as faixas de temperatura ótima para a atividade enzimática. A FLQT1-1 demonstrou ser a enzima mais ativa e a FLQT3-2 foi a mais estável.

## AGRADECIMENTOS

FAPEG, CNPq e IFGoiano Campus Rio Verde.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BISSWANGER, H. Enzyme Assays. **Science Direct**, n. 1, p. 41-45, 2014
- DAOUD, B.F.; KADDOUR, S.; SADOUN, T. Adsorption of cellulase *Aspergillus niger* on a commercial activated carbon: Kinetics and equilibrium studies. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. v.75, p.93-99, 2010.
- GHOSE, T.K. Measurement of cellulose activities. **Pure and Applied Chemistry**, v. 59, p. 257-268, 1987. DOI: 10.1351/pac198759020257.
- LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.L.; COX, M.M. **Princípios de Bioquímica**. 3.ed. São Paulo: Sarvier, 2002.
- MANDELS, M.; WEBER, J. Production of cellulases. **Advances in Chemistry Series**, v. 95, p. 391-414, 1969.
- MARQUES, D. R.; COUTINHO, F. S.; RIBEIRO, P. A. F.; SILVA, J. A.; GRANJEIRO, P. A.; GONÇALVES, D. B.; GALDINO, A. S. Enzymatic hydrolysis of raw cassava starch and production by *Saccharomyces cerevisiae* CENPK2 expressing a glucoamylase from *Aspergillus sawamori*. **Biochemistry and Biotechnology Reports**, v.2, n.4, p.22-29, 2013.
- MILLER, G. L. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31, n° 3, p. 426-428, 1959.