

Atividade de celulases e xilanases de variantes genéticas de *Penicillium echinulatum* em biorreator de agitação mecânica

Matheus Miguel Froes, Andrieli S. Orback, Roselei Claudete Fontana, Aldo José Pinheiro Dillon.
Modalidade da bolsa: PIBIC-CNPq
Projeto: Celu-pect

Introdução

Atualmente as celulases vem sendo utilizadas como componentes da tecnologia do etanol de segunda geração, visto que, estas enzimas hidrolisam o polímero celulose ao açúcar fermentescível glicose. A obtenção das celulases se dá através de microrganismos, sendo que o fungo filamentososo *Penicillium echinulatum* destaca-se pela elevada produção de celulases e xilanases. Isso se deve a capacidade da linhagem de secreção de celulases com atividade sobre papel filtro (FPA) com títulos superiores a 2U/mL e por apresentar relação de FPA e β -glicosidases mais eficientes, quando comparadas com as celulases de *Trichoderma reesei*. Para a utilização do *P. echinulatum* na indústria, se torna necessária a realização de programas de melhoramento genético envolvendo mutagênese e fusão de protoplastos, a fim de obter elevados títulos enzimáticos e reduzir o tempo de produção.

Objetivo

O objetivo do presente trabalho foi verificar a produção de celulases e xilanases de variantes genéticas em biorreator de mistura completa.

Material e Métodos

Microrganismos utilizados

Foram utilizadas as linhagens parental S1M29 e os variantes 370 e 339-e, que foram obtidos através de *genome shuffling* das linhagens mutante D10 e a fusionante 306.

Pré-inóculo

O pré-inóculo foi feito em frascos erlenmeyer com volume total de 100 mL de meio de cultivo



O meio de cultivo era constituído de 0,5% de celulose, 0,2% farelo de soja, 0,5% farelo de trigo, 0,5% de sacarose, 0,05% de prodex, 0,2% de *tween* e 5% de solução de sais (MTV)

Os frascos foram inoculados com 1×10^7 esporos/mL e mantidos sob agitação por 48 h.

Biorreator



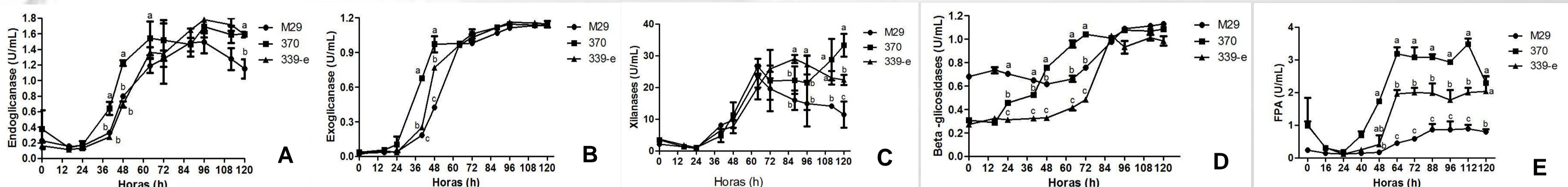
1% de celulose
0,5% de sacarose
0,5% de farelo de trigo
0,2% de farelo de soja
0,05% de prodex
0,2% *tween*
5% de solução de sais (MTV)
10% de inóculo

Análises enzimáticas

- Endoglicanases (Ghose, 1987)
- Exoglicanases (Deshpande *et al.*, 1984)
- Xilanases (Bailey *et al.*, 1992)
- Atividade sobre o papel filtro (FPA) (Camassola & Dillon, 2012)
- β -glicosidases (Daroit *et al.*, 2008)

Os cultivos foram mantidos por 120h e volume de trabalho de 5L

Resultados e discussão



Variação da atividade de endoglicanases (A), exoglicanase (B), xilanases (C), β -glicosidases (D) e FPA (E) da linhagem parental (S1M29) e dos variantes genéticos (339-e e 370), em cultivo em biorreator de mistura completa.

Atividade máxima (1,78 U/mL) de endoglicanase foi obtida com a linhagem 339-e em 96h, sendo que a linhagem parental apresentou seu pico de 1,49 U/mL em 88h. Para exoglicanase, todas as linhagens apresentaram valores máximos semelhantes. Para β -glicosidases, as atividades do parental e dos variantes foram semelhantes em 108h de cultivo, porém, o variante 370 apresentou atividade superior em 48h de cultivo. Para FPA, atividade superior foi obtida pelo variante 370. Atividade superior de Xilanases foi obtida pelo variante 370 em 120h.

Considerações Finais

Utilizando a técnica de *genome shuffling* é possível obter variantes para a secreção de celulases e xilanases com elevada produção.

Referências

- Bailey M.J., Biely P., Poutanen K. (1992). *J. Biotechnol* 23:257–270.
Daroit D.J., Simonetti A., Hertz P.F., Brandelli A. (2008). *Microbiol Biotechnol* 18:933–941 29.
Ghose T.K., *Pure Appl. Chem.* (1987). 59:257–268.
Camassola, M.; Dillon, A.J.P. (2012). *J. Anal. Bioanal. Techniq.* 1:125.
Deshpande, M.V., Eriksson, K.E., Pettersson, L.G. (1984). *Anal. Biochem.* 238:481-487.

Apoio

