



PRODUÇÃO E PURIFICAÇÃO PARCIAL DE XILANASES DOS FUNGOS *Kretzschmaria zonata* e *Ceratocystis fimbriata* PARA PRODUÇÃO DE XILOOLIGOSSACARÍDEOS

Jhennifer Julia de Sousa Dias¹; Gabriela Piccolo Maitan-Alfenas² (Orientadora)

Universidade Federal de Viçosa – Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular

Trabalho de Pesquisa - Área temática: Purificação enzimática - Grande área: Bioquímica

Palavras-chave: Xilanases, fungos, resíduos, purificação, xilooligossacarídeos.

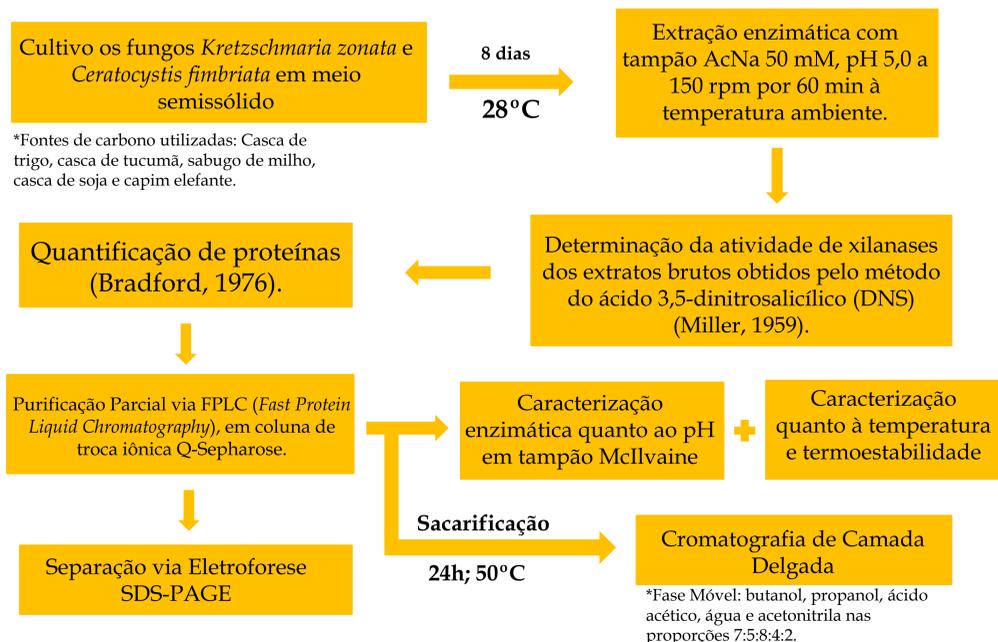
Introdução

A parede celular vegetal é constituída majoritariamente dos polissacarídeos insolúveis celulose e hemicelulose. Esta última é composta por xilana, um biopolímero formado por monômeros de xilose, açúcares ligados por ligações glicosídicas β (1-4). Xilanases, por sua vez, são enzimas hidrolíticas cuja ação catalítica promove a hidrólise das ligações β (1-4) que conectam os resíduos de xilose desse biopolímero (Polizeli et al., 2005). Para a sacarificação da xilana, foram utilizadas xilanases oriundas de dois fungos: *Kretzschmaria zonata* e *Ceratocystis fimbriata*, microrganismos patógenos nativos capazes excretar as enzimas lignocelulolíticas (Tovar, 2014).

Objetivos

Induzir a secreção de endo- β -1,4-xilanases pelos fungos *Kretzschmaria zonata* e *Ceratocystis fimbriata* em cinco fontes de carbono distintas, para posterior purificação parcial e caracterização da enzima e sua aplicação na produção de xilooligossacarídeos.

Material e Métodos



Resultados e Discussão

Os extratos enzimáticos produzidos a partir de sabugo de milho apresentaram as maiores atividades específicas, de $7,47 \times 10^{-4}$ U/mg e 0,0178U/mg, respectivamente, para os fungos *K. zonata* e *C. fimbriata*; sendo esses selecionados para purificação e caracterização enzimática, expostas abaixo.

Fungos	Etapas	Proteína (mg/mL)	Atividade (U)	Atividade específica (U/mL)	Fator de Purificação	Rendimento (%)
<i>K. Zonata</i>	Extrato bruto	75,23	0,57	0,008	1	100
	Q-Sepharose	19,18	0,20	0,011	1,37	36,02
<i>C. fimbriata</i>	Extrato bruto	124,45	0,75	0,006	1	100
	Q-Sepharose	10,27	0,24	0,023	3,82	31,56

Tabela 1 - Purificação parcial das endo-1,4- β -xilanases secretadas pelos fungos *Kretzschmaria zonata* e *Ceratocystis fimbriata*.

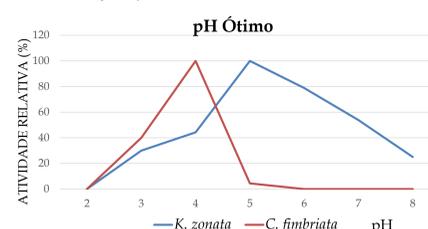


Figura - Efeito do pH na atividade das endo-1,4- β -xilanases secretadas pelos fungos *Kretzschmaria zonata* e *Ceratocystis fimbriata*.

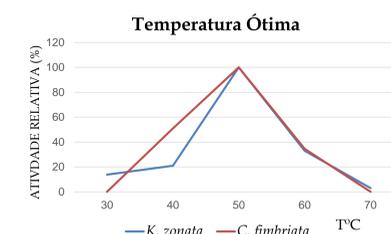


Figura 2- Efeito da temperatura na atividade das endo-1,4- β -xilanases secretadas pelos fungos *Kretzschmaria zonata* e *Ceratocystis fimbriata*

Conclusões

Os fungos *K. zonata* e *C. fimbriata* foram capazes de secretar endo-1,4- β -xilanases em todas as fontes de carbono testadas. As xilanases de *K. zonata* e *C. fimbriata*, após crescimento em sabugo de milho, apresentaram maior atividade com incubação a 50 °C em pH 5 e 4, respectivamente; além de satisfatória termoestabilidade a 50 °C, com perda de metade de sua atividade enzimática em 97 e 168 min, nesta ordem.

Bibliografia

- Bradford, M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Analytical Biochemistry* 72, 248-254, 1976.
- Cunha, C.C.; Gama, A.R.; Cintra, L.C.; Bataus, L.A.M.; Ulhoa, C.J. Improvement of bread making quality by supplementation with a recombinant xylanase produced by *Pichia pastoris*. *PLoS ONE* 13(2), 2018.
- Gomes, K.S.; Maitan-Alfenas, G.P.; Andrade, L.G.A.; Falkoski, D.L.L.; Guimarães, V.M.; Alfenas, A.C.; Rezende, S. T. Purification and characterization of xylanases from the fungus *Chrysosporthe cubensis* for production of xilooligosaccharides and fermentable sugars. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 182(2), 1-13, 2016.
- Polizeli, M. L. T. M., Rizzatti, A. C. S.; Monti, R.; Terenzi, H. F.; Jorge, J. A.; Amorim, D. S. Xylanases from fungi: properties and industrial applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 67, 5, 577-591, 2005.
- Maitan-Alfenas, G.P.; Alfenas, R. F.; Guimarães, V. M. *Phytopathogenic Fungi: Useful Tools to Degrade Plant Biomass for Bioethanol Production. Modern Concepts & Developments in Agronomy*, v. 5, p. 499-501, 2019.