

Produção de enzimas celulases e xilanases para processo de hidrólise enzimática

PIBIC – CNPq
EM

PRONEM2

Laura Salgueiro de Carvalho, Paula Cavion, Roselei Fontana,
Marli Camassola (Orientador(a))



INTRODUÇÃO E OBJETIVO

O aumento pela procura por biocombustíveis, como o etanol de segunda geração, estimula o desenvolvimento de novas tecnologias para obtenção destes a partir de diferentes biomassas. Diante disso, o presente trabalho teve como **objetivo** identificar qual solvente é o mais adequado para a hidrólise enzimática, visto que para hidrólise de grandes volumes, a utilização de tampões acaba tornando-se bastante onerosa, bem como verificar qual a fonte de derivada de eucalipto é mais apropriada para a produção de enzimas para a degradação de polissacarídeos presentes na parede celular vegetal.

EXPERIMENTAL

Primeiramente, foram testados quanto à produção de enzimas celulases e xilanases, a polpa de eucalipto e o eucalipto pré-tratado por explosão a vapor. Em um segundo momento, foram comparados água e tampão citrato, a fim de avaliar qual soluto seria mais eficiente no processo de hidrólise enzimática. Em ambos, foi utilizado o microrganismo *Penicillium echinulatum* S1M29 para produção de enzimas, com variação na concentração de esporos, esta dependente do meio de cultivo inserida.

1. POLPA DE EUCALIPTO VS EUCALIPTO PRÉ-TRATADO POR EXPLOSÃO À VAPOR

MEIO DE CULTIVO	CONDIÇÕES	ANÁLISES
<ul style="list-style-type: none"> ✓ 5 g polpa de eucalipto ou eucalipto pré-tratado ✓ 1g de farelo de arroz ✓ 0.666 g de farelo de trigo ✓ 1 mL de solução de sais ✓ 1 mL de 2.10^6 esporos do fungo 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ 3 g de cultivo + 17 mL tampão citrato (pH 4,8) 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ FPA (filter paper activity) ✓ Xilanase ✓ β-glicosídeses ✓ endoglicosídeses

2. HIDRÓLISE ENZIMÁTICA: TAMPÃO CITRATO DE SÓDIO (pH 4,8) VS ÁGUA

MEIO DE CULTIVO	CONDIÇÕES	ANÁLISES
<ul style="list-style-type: none"> ✓ 75 g de polpa de eucalipto ✓ 7,5 g de farelo de arroz ✓ 5 g farelo de trigo ✓ 50mL de sais ✓ 75 mL de 2.10^6 esporos do fungo 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ 4 g de cultivo + 36 mL H₂O ou tampão ✓ (4 g cultivo + 3,3 mL H₂O ou tampão) + 4 g de cultivo + completar para 32 mL H₂O ou tampão ✓ 4 g de cultivo + 2 g eucalipto (0 h) + (2g eucalipto (6 h) +32 mL) ✓ 4 g eucalipto +36 mL H₂O ou tampão ✓ 4 g de cultivo + 4 g de eucalipto + 32mL de H₂O ou tampão ✓ 4 g de eucalipto + 36 mL H₂O 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Quantificação de glicose (mg/mL)

Para ambas as etapas, o processo experimental foi constituído pelos estágios demonstrados no esquema abaixo:



RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a produção de enzimas, as maiores atividades foram verificadas quando utilizou-se eucalipto pré-tratado por explosão, sendo obtidas atividades de 7,2 U.g⁻¹, 361 U.g⁻¹, 49,4 U.g⁻¹ e 27,4 U.g⁻¹ para FPA, xilanases, β -glicosídeses e endoglicosídeses, respectivamente. Enquanto para polpa de eucalipto os valores foram de 6,7 U.g⁻¹, 283 U.g⁻¹, 45 U.g⁻¹ e 18 U.g⁻¹, respectivamente (Figura 1).

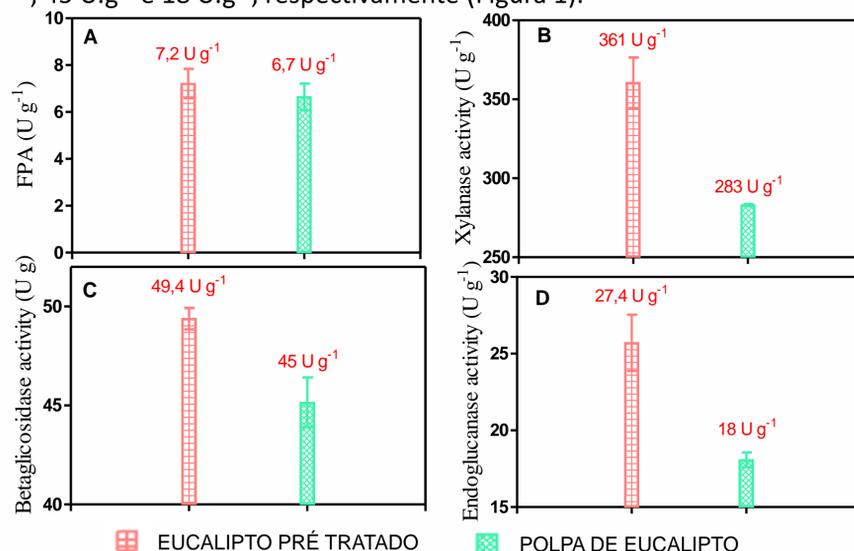


Figura 1 - Atividades enzimáticas de (A) FPA, (B) xilanase, (C) β -glicosídeses e (D) endoglicosídeses produzidas por *Penicillium echinulatum* S1M29, em cultivos em estado sólido.

O solvente que apresentou os resultados mais promissores durante a hidrólise foi o tampão citrato de sódio (pH 4,8), possibilitando a obtenção do dobro da concentração de glicose durante a hidrólise de eucalipto, sendo as concentrações de glicose obtidas nas condições 1, 2, 3 e 5 5,3 mg.mL⁻¹, 2,9 mg.mL⁻¹, 22,2 mg.mL⁻¹ e 17,2 mg.mL⁻¹, respectivamente (Figura 2).

O uso de água como solvente resultou nas mais baixas concentrações de glicose, sendo estas, para as condições 1, 2, 3 e 5, 1,6 mg.mL⁻¹, 1,4 mg.mL⁻¹, 11 mg.mL⁻¹ e 12 mg.mL⁻¹, respectivamente. A condição 4 foi utilizada como grupo de controle com o intuito de confirmar se a biomassa isolada não estava produzindo açúcares que poderiam vir a interferir no resultado da hidrólise, isso explica a ausência de glicose vinda dessa condição.

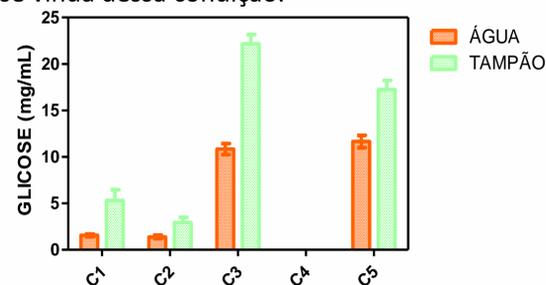


Figura 2 - Concentração de glicose liberada durante a hidrólise enzimática de eucalipto pré-tratado por explosão a vapor.

Estes resultados constituem-se em informações essenciais para tomadas de decisões de conduções de processos de produção e hidrólise enzimática.

CONCLUSÃO

A utilização de eucalipto pré-tratado e de tampão citrato auxilia na produção enzimática, bem como obtenção da glicose ocasionando um maior rendimento de produto final, sendo estes processos viáveis para a diminuição de custos, tempo e resíduos perigosos ao meio ambiente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bailey et al. (1992). *J Biotechnol* 23:257-270
- Daroit et al. (2008). *J Microbiol Biotechnol* 18:933-941
- Deshpande et al. (1984). *Anal Biochem* 138:481-487
- Ghose, T.K. (1987). *Pure & App Chem* 59(2):257-268
- Mandels; Reese (1957) *J Bacteriol* 73(2):269-78.

APOIO

