

PROBITI -
Fapergs

Produção de lacases e celulases para a hidrólise enzimática de biomassa

Ester F. Córdova; Letícia O. da Rosa; Roselei C. Fontana; Aldo J. P. Dillon

Introdução / Objetivo

A biomassa lignocelulósica é um recurso abundante e renovável que pode ser utilizada para a produção de etanol (segunda geração). A eficiência da conversão da biomassa lignocelulósica em açúcares fermentescíveis requer a ação combinada de diferentes enzimas, como celulases, hemicelulases e fenoloxidasas. Desta forma, destaca-se a importância de avaliar a capacidade de produção de diferentes enzimas por microrganismos, viabilizando o processo de hidrólise enzimática, resultando em incremento do rendimento de açúcares fermentescíveis.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar diferentes isolados para a produção de lacases e celulases em cultivo submerso.

Experimental

Cultivo submerso

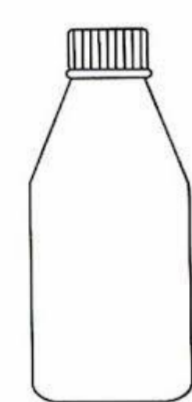
	Meio Padrão
Celulose	1%
Sacarose	0,1%
Farelo de soja	0,2%
Farelo de trigo	0,5%
Prodex®	0,05%
Tween 80®;	0,1%
Água destilada	95%
Solução mineral	5%

20 Isolados de
macrofungos
(coleção do
laboratório de
enzimas e
biomassas)

Análises
Lacases;
Atividade sobre o papel filtro (FPA)
Beta-glicosidases
Endoglicanases
Xilanases

Hidrólise enzimática

- 2% de bagaço de cana de açúcar ou capim elefante.
- FPA (*Penicillium echinulatum*) – 15 U/grama de substrato;
- Lacases (PR 32)-100 U/grama.
- Tampão citrato de sódio (50 mM, pH 4,8) para completar o volume de 50 mL.



Agitação: 150 rpm
40°C
48h

As amostras foram
centrifugadas e
analisadas em HPLC

Resultados e Discussão

Foi avaliada a atividade enzimática (Atividade sobre o papel filtro (FPA), endoglicanases, β -glicosidases e exoglicanases e xilanases) de 20 isolados de macrofungos. Para a atividade de lacases, o isolado PR 32 atingiu atividade de 302 U/mL e 0,095 U/mL para FPA. A atividade de FPA foi baixa em todos os isolados avaliados, sendo que para a atividade de xilanases o isolado VE 07 atingiu 29 U/mL (Tabela 1). Foi realizado um cultivo em diferentes tempos utilizando os dois isolados que se destacaram para lacases (PR 32) e para xilanases (VE 07) (Figura 1)

Tabela 1 – Resultados gerais de FPA (Atividade sobre papel filtro), xilanases e lacases em cultivo submerso de diferentes isolados de macrofungos em 96 horas de cultivo.

Isolados	FPA (U/mL)	Lacases (U/mL)	Xilanases (U/mL)
88F.13	0,0	12,88	1,89
26C	0,0	1,64	5,09
161E.25	0,005	0,49	29,01
140F.13	0,0	9,73	1,64
208E.36	0,008	0,0	4,08
289G.32A	0,002	2,51	1,34
525	0,0	45,06	1,28
8L	0,0	9,32	1,17
36L.16	0,0009	2,59	1,26
VE_07	0,026	0,0	30,17
49L.29	0,0009	2,59	1,25
82I.6	0,050	3,70	11,39
130E.26A	0,057	1,23	13,90
PR_32	0,095	302,46	19,75
VE_111	0,012	24,69	8,86
14G	0,028	67,90	9,57
39E.15D	0,016	13,58	7,25
PR_20	0,016	1,23	8,73
PS 2001	0,021	17,77	7,70
36L.16	0,017	0,0	7,30

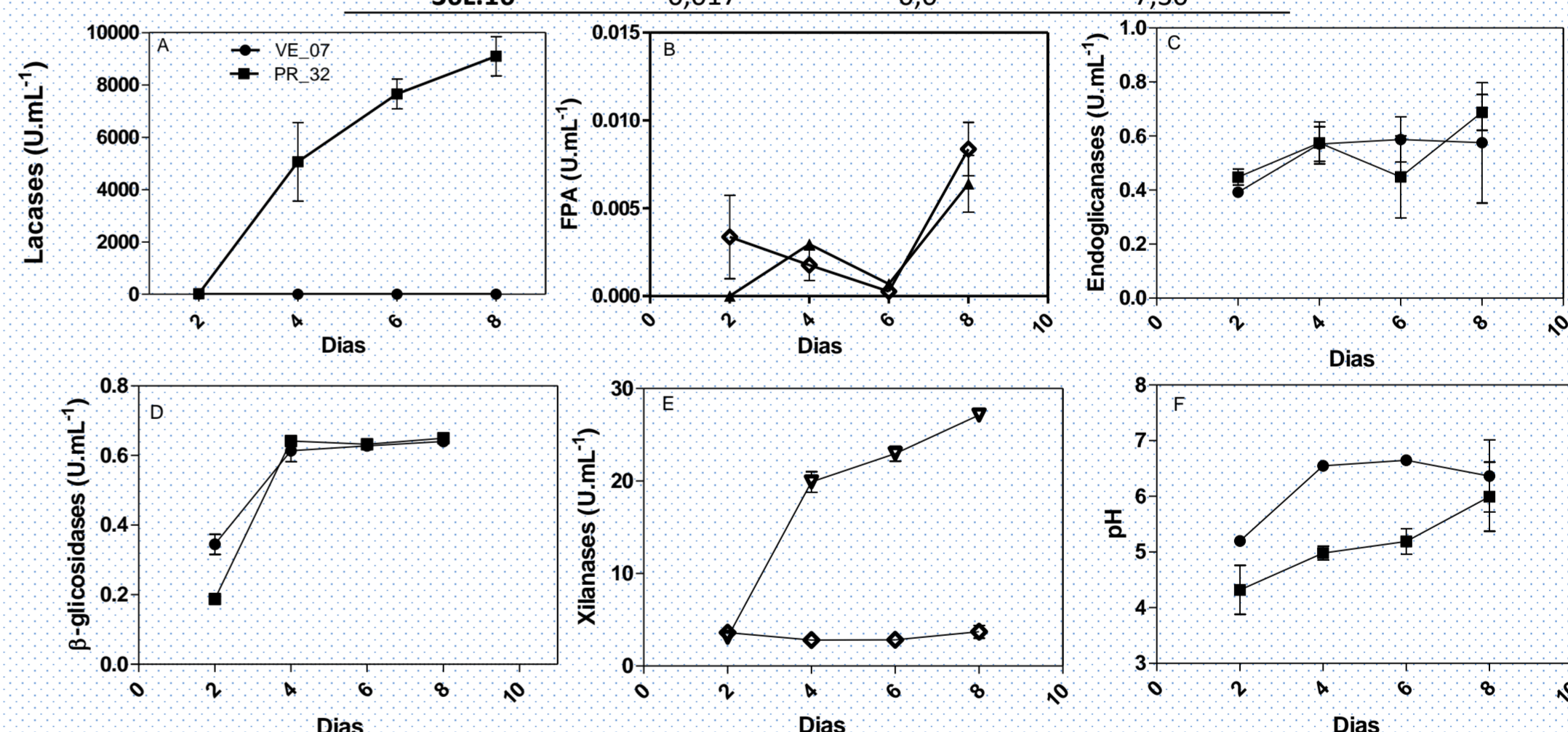


Figura 1. Variação da atividade de lacases (A), atividade sobre o papel filtro – FPA (B), endoglicanases (C), beta-glicosidases (D), xilanases (E) e pH (F) em cultivo submerso de diferentes isolados de macrofungos.

Para a hidrólise das biomassas lignocelulósicas foram utilizadas as lacases produzidas pelo isolado PR 32 (*Pycnoporus sanguineus*) e celulases de *Penicillium echinulatum*. Nas condições testadas não houve influência na liberação de glicose na presença de lacases.

Tabela 2 – Hidrólise enzimática de bagaço de cana de açúcar e capim elefante utilizando celulases e lacases.

	Bagaco de cana de açúcar	Capim elefante
	Glicose (mg/mL)	
Lacases	0,0±0	0,0±0
Celulases (0h) – Lacases (24h)	0,595±0,03	0,925±0,05
Celulases	0,780±0,06	1,120±0,01
Celulases (0h) - Lacases (0h)	0,590±0,04	1,025±0,01

Conclusões

A partir da avaliação do potencial de diferentes macrofungos na obtenção de lacases e celulases foi possível selecionar um isolado com elevada produção de lacases.

Referências Bibliográficas

- Bourbonnais, R.; Paice, M. G. (1988). Biochem. J. 255:445-450.
Bailey, M.J., Biely, P., Poutanen, K. (1992). J. Biotechnol. 23:257-270.
Camassola, M., Dillon, A.J.P. (2012). Fast, Practical and Efficient 1, 125.
Daroit, D.J., Simonetti, A., Hertz, P.F., Brandelli, A. (2008). J. Microbiol Biotechnol. 18:933-941.
Ghose, T.K., (1987). Pure Appl Chem. 59:257-268.
Miller, G.L. (1959). Anal. Chemis. 31:426-428.

Apoio

