

USO DO *Penicillium echinulatum* PARA A PRODUÇÃO DE CELULASES UTILIZANDO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR

PRONEM 2 / PROBIC – FAPERGS

Gabriele Menegotto; Roselei Claudete Fontana; Simone Zaccaria; Aldo José Pinheiro Dillon

INTRODUÇÃO

O *Penicillium echinulatum* é um microrganismo capaz de produzir celulases, que por sua vez, são compostas por um complexo enzimático que transforma a celulose, que é uma cadeia longa de polissacarídeos, em glicose. A celulose é um composto encontrado na parede celular vegetal, sendo um material de muita abundância na terra, contribuindo para tornar a utilização da biomassa um processo de baixo custo para a produção de etanol de segunda geração, estando os seus gargalos tecnológicos resolvidos, que são o pré-tratamento e o custo das enzimas.

OBJETIVO

Avaliar o meio de cultivo quanto as formas de utilização de bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado por explosão à vapor, bem como a idade do inóculo para produção de celulases.

METODOLOGIA

Meio de cultivo - Inóculo

- 5 g/L de farelo de trigo;
- 2 g/L de farelo de soja;
- 5 mL de sais (MTV) (Mandels & Reese, 1957);
- 1 mL/L Tween® 80;
- água destilada para completar 100 mL;
- 0,5 g/L Prodex®;
- 1 g/L sacarose;
- 5 g/L de celulose.

Meio inoculado com esporos - *Penicillium echinulatum*

Cultivos

Teste – Bagaço
A celulose foi substituída por bagaço de cana-de-açúcar (úmido, seco e triturado)

Teste – Inóculo

- Esporos
- 48 horas
- 72 horas



Os frascos foram mantidos em agitação recíproca a 28°C

Foram coletadas amostras em tempos variando entre 24 e 96 horas

Análises enzimáticas

- Atividade sobre papel filtro – FPA – papel filtro Whatman n.1- (Ghose, 1987; Camassola & Dillon, 2012)
- Atividade de endoglicanases – carboximetilcelulose – (Ghose, 1987)
- Atividade de exoglicanases - p-nitrofenilcelulosídeo – (Deshpande *et al.*, 1984)
- Atividade de β-glicosidases – p-nitrofenilglicosídeo – (Daroit *et al.*, 2008)
- Atividade de xilanases – xilana de aveia – (Bailey *et al.*, 1992)

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bailey, M.J.; Biely, P.; Poutanen, K. (1992). Interlaboratory testing of methods for assay of xylanase activity. *J. Biotechnol.* 23: 257-270.
- Camassola, M.; Dillon, A.J.P. (2012). Cellulase Determination: Modifications to Make the Filter Paper Assay Easy, Fast, Practical and Efficient. *J. Anal. Bioanal. Tech.* 1:1-4.
- Daroit, D.J.; Simonetti, A.; Hertz, P.F.; Brandelli, A. (2008). Purification and characterization of an extracellular β-glucosidase from *Monascus purpureus*. *J. Microbiol. Biotechnol.* 18: 933-941.
- Deshpande, M. V.; Eriksson, K. E.; Pettersson, L. G. (1984). An assay for selective determination of exo-1,4-B-glucanases in a mixture of cellulolytic enzymes. *Anal. Biochem.* 238: 481-487.
- Ghose, T.K. (1987). Measurement of cellulase activities. *Pure Appl. Chem.* 59: 257–268.
- Mandels, M., Reese, E.T. (1957). Induction of cellulase in *Trichoderma viride* as influenced by carbon sources and metals. *J. Bacteriol.* 73: 269–278.

APOIO



RESULTADOS E DISCUSSÃO

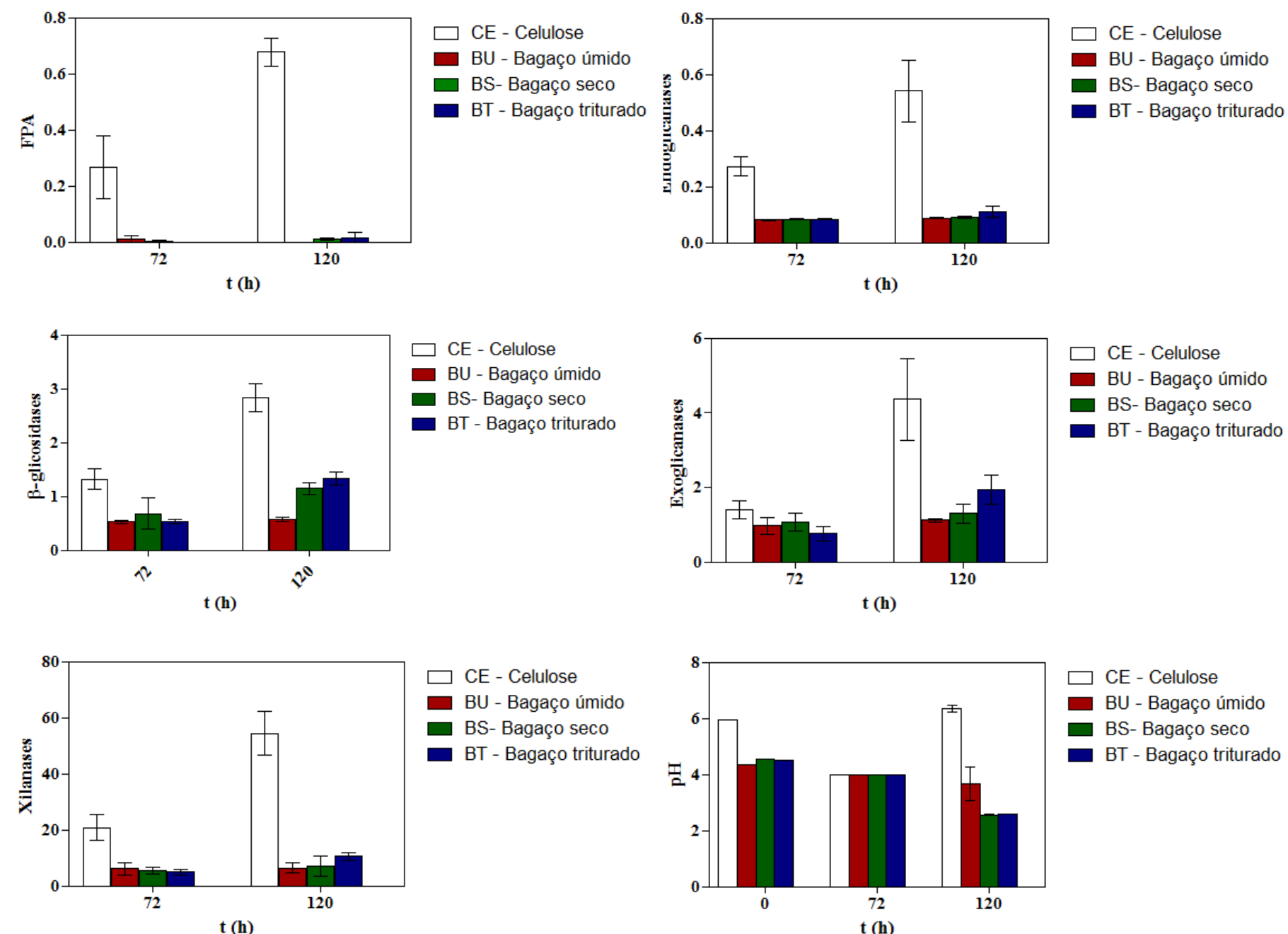


Figura 1. Atividade de FPA, Endoglicanase, β-glicosidases, Exoglicanases e variação do pH em cultivos submersos de *P. echinulatum* em frascos agitados a 28°C, utilizando diferentes condições de biomassa.

Os testes realizados para avaliar as condições de uso do bagaço de cana-de-açúcar, como principal fonte de carbono demonstraram que o bagaço seco e seco triturado resultam em maior atividade de xilanases e das enzimas pertencentes ao complexo celulolítico (β-glicosidases, exoglicanase e endoglicanase) quando comparados ao bagaço úmido, porém inferiores ao controle com celulose. Entretanto, a atividade sobre o papel filtro (FPA) foi baixa para todos os meios formulados utilizando bagaço. Diante desses resultados, a continuidade desse trabalho foi realizada utilizando o bagaço de cana-de-açúcar seco, uma vez que o mesmo possui uma etapa de pré-tratamento a menos em relação ao seco triturado, diminuindo seus custos de utilização.

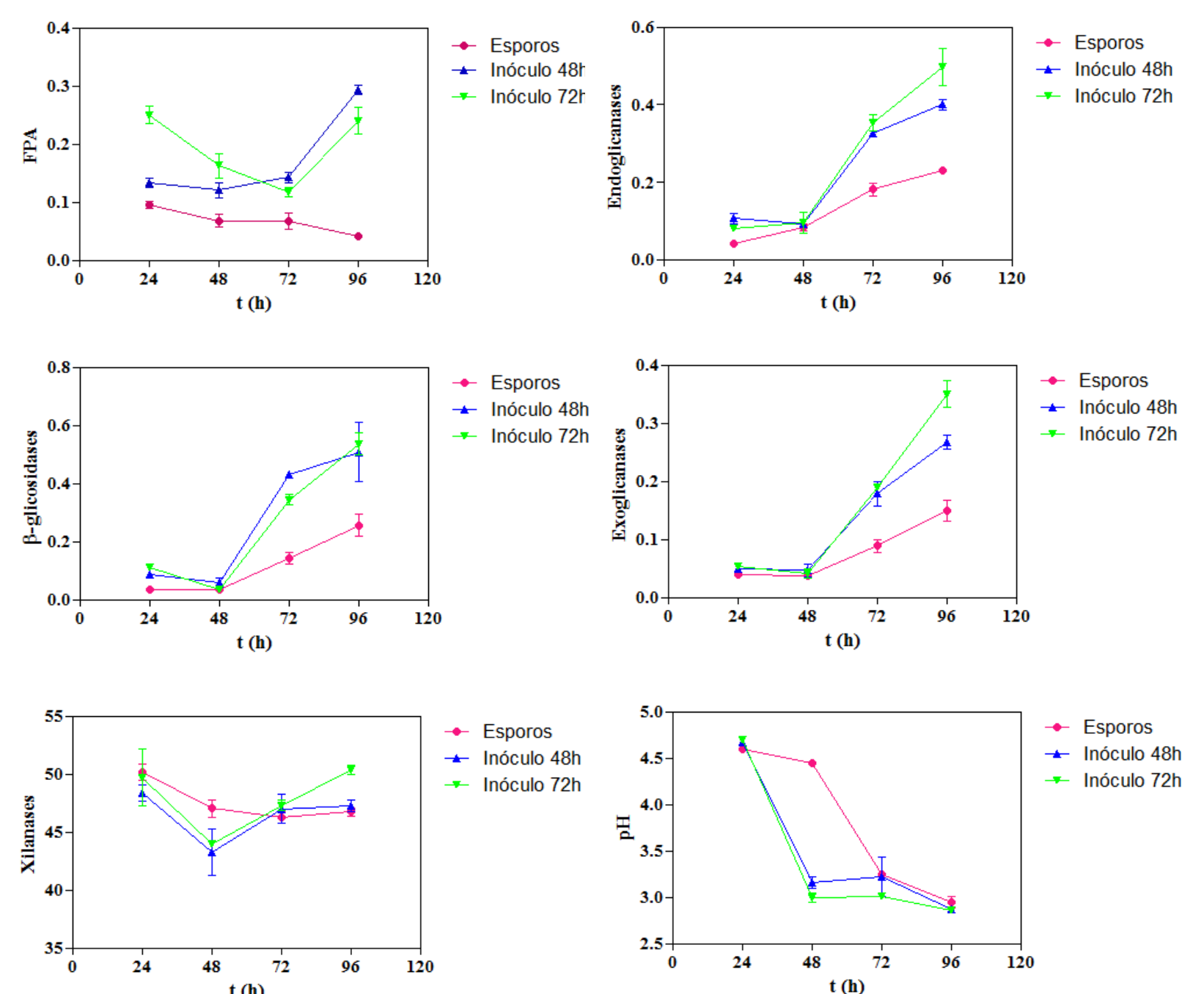


Figura 2. Atividade de FPA, Endoglicanases, β-glicosidases, Exoglicanases, Xilanases e variação do pH em cultivos submersos de *P. echinulatum* em frascos agitados a 28°C, por 96 horas, utilizando diferentes tempos de inóculo.

Com o meio formulado com bagaço seco foram realizados testes para avaliar o melhor tempo de preparação do inóculo (48 ou 72 horas), sendo que para o controle, utilizou-se uma suspensão de esporos. O inóculo de 72 horas apresentou as maiores atividades de Endoglicanase, Exoglicanase e Xilanases, enquanto o inóculo feito com o cultivo de 48 horas teve maiores resultados nos testes de FPA. Já para β-glicosidases, ambos tratamentos apresentaram resultados semelhantes.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Após os testes preliminares, conclui-se que o inóculo proveniente de 72 horas resulta em maiores atividades quando comparados a meios inoculados com esporos de *P. echinulatum*, bem como que a utilização de bagaço seco é a mais indicada para a sequência do trabalho. Entretanto, mais estudos utilizando biorreatores devem ser realizados, a fim de incrementar a produção enzimática.