

# PESQUISA MOVIMENTA INOVAÇÃO. INOVAÇÃO MOVIMENTA O FUTURO.

XXVIII ENCONTRO DE JOVENS PESQUISADORES E  
X MOSTRA ACADÊMICA DE INOVAÇÃO E TECNOLOGIA

07 e 08 de OUTUBRO de 2020  
UCS CAMPUS-SEDE - CAXIAS DO SUL



UCS  
UNIVERSIDADE  
DE CAXIAS DO SUL  
PESSOAS EM  
MOVIMENTO

## Avaliação do potencial da utilização de licores de pré-tratamento hidrotérmico como substrato para a produção de xilanases

PIBIC - CNPq

Sigla: PRONEM 2

Autores: Amanda Poletto Santi, Andréia Toscan, Roselei Claudete Fontana e Aldo José Pinheiro Dillon.



### Introdução / Objetivo

A realização de pré-tratamentos hidrotérmicos possibilita a obtenção de uma fração líquida (licor) enriquecida em constituintes das hemiceluloses de biomassa lignocelulósicas, entre os quais cabe destacar a presença de xilose e xilooligosacarídeos (XOS), conforme características da biomassa utilizada. Do ponto de vista comercial as xilanases representam um importante grupo de enzimas. Diante disso, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a utilização de licores de pré-tratamento hidrotérmico de capim-elefante como substrato para estimular a produção de xilanases em cultivos em estado sólido de *Penicillium echinulatum*.

### Metodologia



A produção enzimática foi conduzida em frascos de 100 mL, contendo:

- 1 g de farelo de trigo (massa seca);
- 0,5 mL de solução salina (MTV);
- 1,5 mL de agregado aquoso portando diferentes concentrações de licor (rico em XOS), variando de 0% (apenas água destilada) a 100% (apenas licor de pré-tratamento).

Os frascos foram inoculados com uma suspensão portando uma concentração de  $1 \times 10^6$  conídios por grama de massa seca de meio.

Incubação a 28 °C em estufa por 8 dias, com coleta de amostra diária em triplicatas.

Extração enzimática: 10 mL de água destilada + 17 mL de tampão citrato de sódio  $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  (pH 4,8) em cada frasco.

#### Condições (mg de XOS por g de farelo de trigo)

Primeiro cultivo:	Segundo cultivo:
• 0 mg	• 0 mg
• 2,4 mg	• 2,1 mg
• 7,2 mg	• 4,1 mg
• 11,9 mg	• 8,9 mg

**Licor de pré-tratamento:**  
Proveniente de duas reações realizados a 180 °C em uma razão líquido/sólido de 10.

Após agitação, a mistura foi centrifugada durante 15 min a 4000 rpm e o sobrenadante foi armazenado para posterior análise da atividade enzimática.

### Resultados e Discussão

Na Fig.1, observa-se que nos dois cultivos realizados a máxima atividade de xilanases ocorreu no 4º dia de cultivo, tanto para as condições sem adição de licor de pré-tratamento quanto para aquelas contendo baixas dosagens do mesmo (2,4 e 2,1 mg de XOS.g<sup>-1</sup> de farelo de trigo, respectivamente nos cultivos 1 e 2). Com o aumento da quantidade de licor adicionada e consequentemente aumento de massa de XOS presentes nos meios de cultivo, a atividade máxima de xilanases ocorreu no 6º dia. Considerando que os licores utilizados não passaram por nenhum processo de purificação, o deslocamento do pico de atividade enzimática provavelmente tem relação com alguma inibição causada por compostos como hidroximetilfurfural (HMF) e furfural, que apesar de em baixa concentração, estão presentes nos licores utilizados.

No cultivo 1, a maior atividade de xilanases ocorreu na condição contendo 7,2 mg de XOS, no 6º dia de cultivo, sendo esta de 526,0 U.g<sup>-1</sup>. Já no cultivo 2, a máxima atividade de xilanases também foi identificada no 6º dia, porém na condição com 4,1 mg de XOS, que apresentou uma atividade de 590,9 U.g<sup>-1</sup>. As adições de 11,9 mg de XOS no cultivo 1 e de 8,9 mg de XOS no cultivo 2 apresentaram atividades xilanólíticas menores do que os ensaios contendo 4,1 e 7,2 mg de XOS.

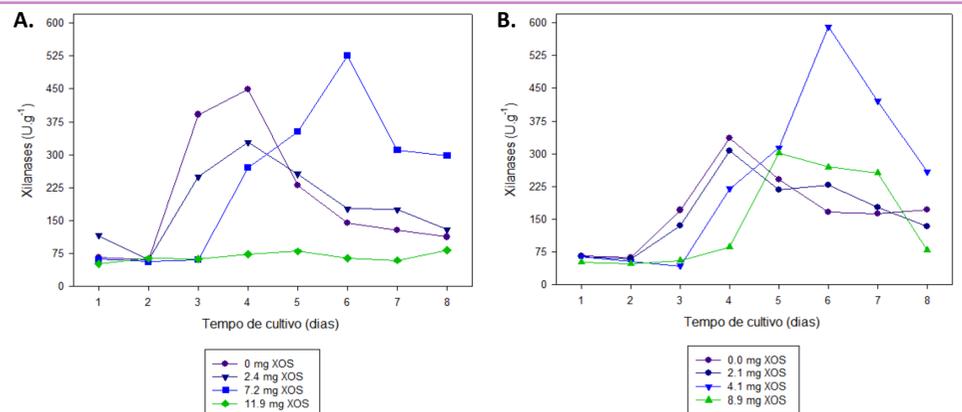


Figura 1: Cinética da atividade de xilanases determinadas nos cultivos 1 (A) e 2 (B), realizados com diferentes concentrações de xilooligosacarídeos adicionados.

Para o segundo cultivo foi realizada a análise de atividade em papel filtro, que caracteriza a atividade celulolítica dos complexos enzimáticos (Fig. 2). É possível observar que a máxima atividade celulolítica foi determinada nas amostras referentes ao 6º dia de cultivo com a adição de 4,1 mg de XOS, sendo esta de 2,8 FPA.g<sup>-1</sup>. Ainda em relação aos ensaios realizados com adição de licor, na condição com adição de 8,9 mg de XOS o 6º dia de cultivo também apresentou a maior atividade, enquanto que na condição realizada com a adição de 2,1 mg de XOS a máxima se deu no 5º dia.

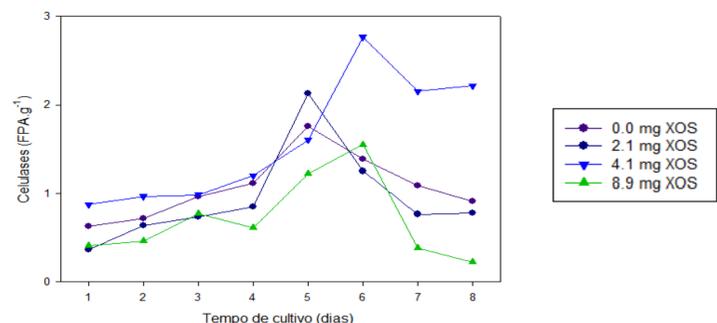


Figura 2: Cinética da atividade em papel filtro determinadas no cultivo 2.

### Conclusões

É possível concluir que os resultados obtidos são especialmente promissores tendo em vista o custo de produção de enzimas. Nas análises de xilanases, as condições sem a adição de licor e aquelas contendo uma menor quantidade do mesmo apresentaram o melhor resultado no 4º dia de cultivo. Entretanto, as condições com a maior quantidade de XOS em ambos os cultivos não foram as que apresentaram a máxima atividade enzimática. Esses resultados indicam que possivelmente exista uma quantidade ideal de XOS que deva ser adicionada de modo a se otimizar a atividade dessas enzimas. Além disso, é possível observar que, apesar de a atividade xilanólítica ser alta no 4º dia de cultivo, a máxima atividade foi obtida no 6º dia. Logo, embora a adição de licor contendo XOS tenha adiado o ponto de máxima obtenção de xilanases, pode-se concluir que o aumento de tempo de cultivo é inferior ao aumento percentual das atividades analisadas.

### Referências Bibliográficas

- Menon, V.; Rao, M.; (2012). Trends in bioconversion of lignocellulose: biofuels, platform chemicals & biorefinery concept. PECS, 38(4), 522-550.
- Ruiz, H.A.; Rodriguez-Jasso, R.M.; Fernandes, B.D.; Vicente, A.A.; Teixeira, J.A. (2013). Hydrothermal processing, as an alternative for upgrading agriculture residues and marine biomass according to the biorefinery concept: a review. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 21, 35-51.
- Toscan, A.; Fontana, R. C.; Andraus, J.; Camassola, M.; Lukasik, R. M.; Dillon, A. J. P.; New two-stage pretreatment for the fractionation of lignocellulosic components using hydrothermal pretreatment followed by imidazole delignification: Focus on the polysaccharide valorization Bioresource Technology 285 (2019) 121346.
- Bailey, M. J., Biely, P. & Poutanen, K. 1992. Interlaboratory testing of methods for assay of xylanase activity. Journal of biotechnology, 23(3), pp 257-270.
- Camassola, M. & Dillon, A. 2012. Cellulase determination: modifications to make the filter paper assay easy, fast, practical and efficient. Open Access Scientific Reports, 1(125).
- Ghose, T. K. 1987. Measurement of Cellulase Activities. Pure and Applied Chemistry, 59(2), pp 257-268.