



PRODUÇÃO DE ENDOXILANASES DE *Penicillium ucsense* S1M29 E SUA APLICAÇÃO A XILOOLIGOSSACARÍDEOS COM POTENCIAL PREBIÓTICO



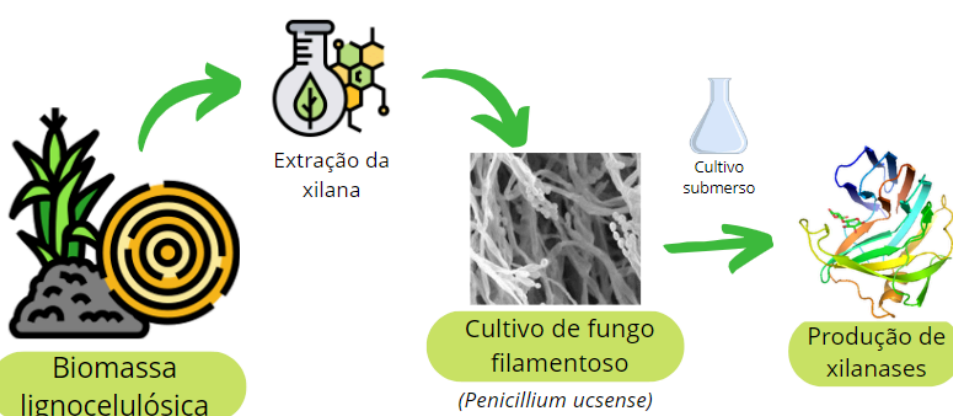
(Amazônia-dez)

Autores: Isadora de Oliveira, Paula Cavion Costa, Roselei Claudete Fontana, Marli Camassola

INTRODUÇÃO / OBJETIVO

Com o crescente aumento do número de casos de distúrbios gastrintestinais, um dos principais desafios é a produção de alimentos saudáveis e funcionais, economicamente viáveis para suprir a grande demanda deste mercado. O objetivo deste trabalho foi a extração da xilana proveniente de diferentes biomassas lignocelulósicas para a produção e purificação de enzimas endoxilanasas, a fim de produzir xilooligossacarídeos (XOS) com potencial prebiótico, visando posterior aplicação em culturas do gênero *Bacillus*.

MATERIAL E MÉTODOS



1. Extração e caracterização da xilana de biomassa lignocelulósica (Capim-elefante, bagaço de cana-de-açúcar, palha de milho) com metodologia adaptada de Nascimento, 2019.
2. Cultivo submerso de *Penicillium ucsense* S1M29 com as xilanas extraídas a fim de identificar qual a mais promissora para produção de xilanasas, enzimas de interesse.
3. Cultivo submerso para produção de caldo enzimático de xilanasas.
4. Purificação das enzimas Endoxilanasas.

RESULTADOS

Com base na Figura 1, é possível perceber que todas as condições cujo meio de cultivo era xilana proveniente de resíduos lignocelulósicos se mostraram mais promissoras para a produção de endoxilanasas do que a condição com a xilana comercial. Dentre as condições, a que se destacou foi a com xilana de bagaço de cana, atingindo uma produção de 24.6 U/g em 72h.

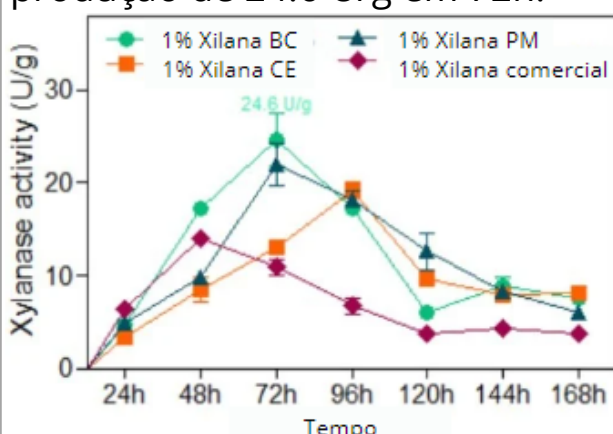


Figura 1: Produção de endoxilanasas de *Penicillium ucsense* S1M29 a partir de xilana extraída de bagaço de cana-de-açúcar (BC), capim-elefante (CE), palha de milho (PM) e xilana comercial.

As xilanas extraídas das biomassas lignocelulósicas possuem, respectivamente, para BC, CE e PM, porcentagens de xilana de 55%, 24% e 32%. As enzimas de BC tiveram sua produção escalonada e foram concentradas em células de ultrafiltração de 30 KDa. Para a purificação das enzimas, foram feitos testes com colunas de intercâmbio iônico aniônico (coluna HiTrap QFF) e catiônico (coluna HiTrap SPFF), assim como a coluna CAPTO. Foram identificados dois picos: um com atividade de β -xilosidases e outro com endoxilanasas e β -xilosidase. Foi feito um gel de proteínas (Figura 2) para identificar o peso molecular das respectivas enzimas a fim de verificar a utilização da técnica de purificação por exclusão molecular. Estima-se que as endoxilanasas de interesse tenham tamanho próximo a 25 KDa, enquanto as betaxilosidases possuem cerca de 22 KDa. Testes iniciais em coluna de exclusão molecular se mostraram mais promissoras para a purificação da enzima endoxilanasas. Diante disso, essa estratégia será utilizada para desenvolver as próximas etapas do projeto e verificar o potencial prebiótico dos XOS.

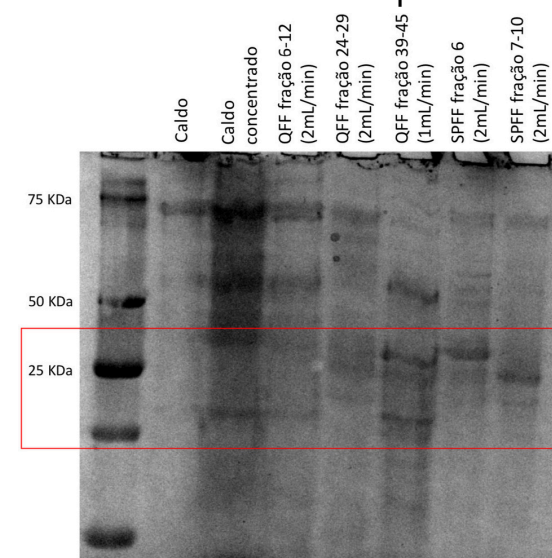


Figura 2: Gel de proteínas do caldo enzimático bruto e das frações das colunas de intercâmbio iônico em diferentes fluxos e pHs.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A xilana de bagaço de cana-de-açúcar foi a condição mais promissora para a produção de enzimas xilanasas. Para a produção de xilooligossacarídeos com grau de polimerização variando de 2-10 (com potencial prebiótico), é necessário purificar o caldo bruto enzimático para reduzir a atividade da β -xilosidase, enzima responsável pela liberação do monômero xilose. Nenhuma das estratégias de purificação por intercâmbio iônico utilizadas foi efetiva para a separação das enzimas, porém testes indicam que gelfiltração de exclusão molecular podem ser uma alternativa eficiente para a purificação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Moreira, L.R.S., Filho, E.X.F., 2016. Insights into the mechanism of enzymatic hydrolysis of xylan. *Appl Microbiol Biotechnol*.
 Nascimento, C.E. de O., 2019. Produção de xilooligossacarídeos a partir do bagaço de cana-de-açúcar pela ação de xilanasas GH10 de *Thermoascus aurantiacus* com atividade expressa em *Pichia pastoris* e aplicação. São José do Rio Preto.
 Palaniappan, A., Antony, U., Emmambux, M.N., 2021. Current status of xilooligosaccharides: Production, characterization, health benefits and food application. *Trends Food Sci Technol*.
 Santibáñez, L., Henríquez, C., Corro-Tejeda, R., Bernal, S., Armijo, B., Salazar, O., 2021. Xilooligosaccharides from lignocellulosic biomass: A comprehensive review. *Carbohydr Polym*.