

# Avaliação do potencial hidrolítico de extratos enzimáticos de *Penicillium echinulatum* e *Trichoderma reesei* produzidos com diferentes biomassas em relação à hidrólise enzimática de lignocelulósicos

Johnatan Vilasboa<sup>1</sup>, Roselei Claudete Fontana, Aldo José Pinheiro Dillon, Marli Camassola

Laboratório de Enzimas e Biomassas – Instituto de Biotecnologia – Universidade de Caxias do Sul

<sup>1</sup>jvilasboa@ucs.br

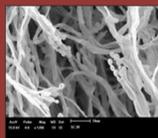
## Introdução

Em vista da busca por novas fontes de energia renovável, o uso de biomassa lignocelulósica apresenta uma alternativa interessante por possibilitar a utilização de resíduos agroindustriais como fonte de carbono nos processos de produção de enzimas (realizados por microrganismos) e hidrólise dos materiais, assim obtendo açúcares fermentescíveis a etanol. Para que o rendimento seja melhor e a produção de etanol de segunda geração seja viável em nível industrial, é essencial que preparados enzimáticos de alto potencial hidrolítico e substratos que sejam facilmente hidrolizáveis sejam obtidos.

Nesse contexto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a produção de enzimas utilizando diferentes fungos filamentosos e diferentes fontes de carbono (biomassas), posteriormente empregando-os na hidrólise enzimática destas mesmas biomassas.

## Materiais e métodos

### Produção de enzimas



*Penicillium echinulatum*  
9A02S1

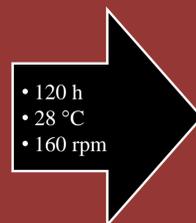
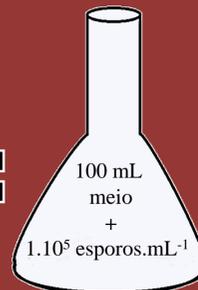
OU



*Trichoderma reesei*  
RUT C30



- Meio de cultivo**
- Farelo de trigo, 0,5% (m/m)
  - Farelo de soja, 0,2% (m/m)
  - Fonte de carbono\*, 1% (m/m)
  - Água destilada, 90% (v/v)
  - Solução salina, 5% (v/v)
  - Tween® 80, 0,0001% (m/v)
- \*Fontes de Carbono**
- Celulose (CEL)
  - Bagaço de cana-de-açúcar não tratado (BNT)
  - Capim-elefante (CE)
  - Bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado por explosão a vapor (BTEV)
  - Avicel® (AVI)



- 120 h
- 28 °C
- 160 rpm



Sobrenadante obtido por centrifugação seguida de filtração, para subsequentes análises enzimáticas

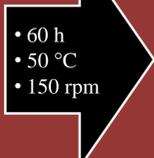
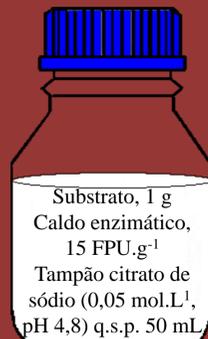
### Hidrólise enzimática

#### Substrato

- Celulose (CEL)
- Bagaço de cana-de-açúcar não tratado (BNT)
- Capim-elefante (CE)
- Bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado por explosão a vapor (BTEV)
- Avicel® (AVI)



#### Caldos enzimáticos



Amostras coletadas 0, 3, 6, 12, 24, 36, 48 e 60 h após o início do processo, para avaliação da liberação de açúcares.

### Procedimentos analíticos

- Atividade sobre papel filtro (FPA) [1];
- Atividade de endoglicanases [2];
- Atividade de β-glicosidases [3];
- Atividade de xilanases [4];
- Liberação de açúcares redutores [5];
- Liberação de glicose (Kit Labtest®)

## Resultados e discussão

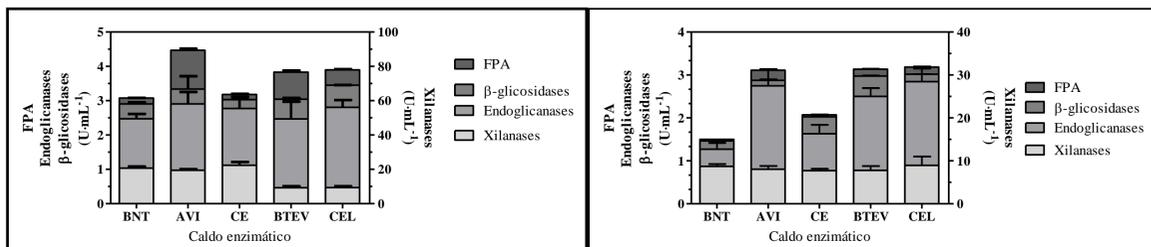


Fig. 1 Atividades enzimáticas (U.mL<sup>-1</sup>) presentes nos caldos enzimáticos (BNT, AVI, CE, BTEV e CEL) produzidos por (A) *Penicillium echinulatum* e (B) *Trichoderma reesei*.

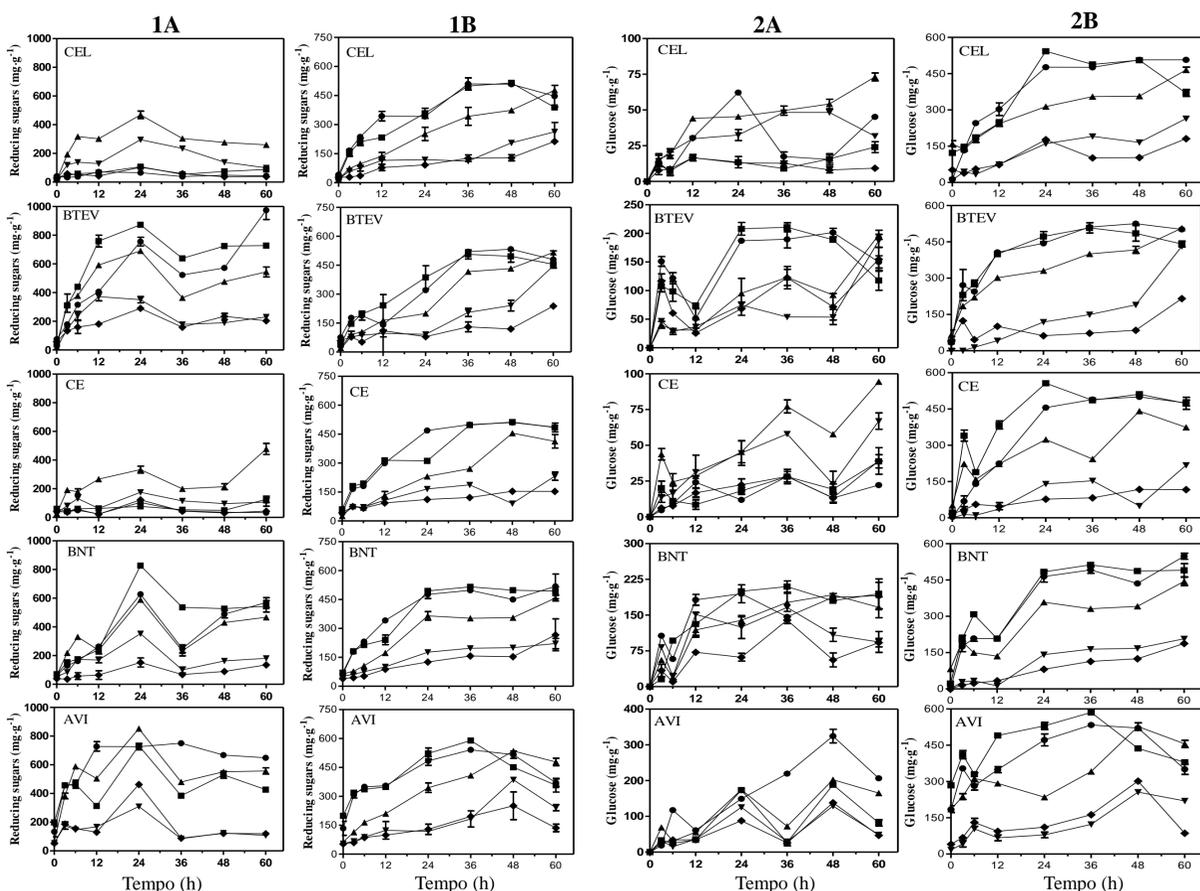


Fig. 2 Liberação de (1) açúcares redutores (mg.g<sup>-1</sup>) e (2) glicose (mg.g<sup>-1</sup>) durante a hidrólise enzimática das cinco biomassas pelos caldos enzimáticos de (A) *T. reesei* e (B) *P. echinulatum*.

Estão representados, na **Figura 1**, os dados referentes às atividades enzimáticas dos caldos produzidos. Os caldos que apresentaram maior atividade catalítica total foram, para ambos os fungos, aqueles produzidos com CEL, BTEV ou AVI.

A análise de atividade sobre papel filtro (*filter paper activity* – FPA) possibilita uma visão global da atividade celulolítica atuante sobre o substrato, pois detecta o resultado da ação sinérgica das celulases, fator vital para que ocorra a hidrólise [7]. Verifica-se que os caldos com maiores níveis de FPA foram exatamente os mesmos com maior atividade enzimática total.

Em relação às xilanases, enzimas que atuam como acessórias na hidrólise de lignocelulósicos [6], as atividades foram uniformes para os caldos de *T. reesei*, porém, nos de *P. echinulatum*, foram maiores nos caldos BNT, AVI e CE.

A atividade de endoglicanases, responsáveis por começar a hidrólise, foi maior nos caldos BNT, AVI e CEL, em ambos os fungos. Para *P. echinulatum*, os caldos que continham títulos mais altos de β-glicosidases foram BNT, BTEV e CEL; para *T. reesei*, foram BNT, CE e BTEV.

Na hidrólise (**Figura 2**), de modo geral, os caldos que se destacaram por seu potencial hidrolítico foram BNT, CEL e AVI. O caldo BNT, apesar de ter menos atividade total que BTEV, teve potencial hidrolítico maior. Isso pode ser justificado pela deficiência de xilanases em BTEV. A presença em alta quantidade dessas enzimas em BNT pode ter resultado nos altos rendimentos.

## Conclusão

Os dados obtidos com este trabalho contribuem para a obtenção de enzimas mais eficientes e de menor custo para a hidrólise, visando a aplicação industrial da produção de etanol de segunda geração. Além disso, é apresentada a possibilidade do uso das biomassas com melhores potenciais hidrolíticos tanto na etapa de produção de enzimas como na hidrólise enzimática.

## Referências

- [1] Mandels *et al.* (1976). *Biotechnol Bioeng Symp* 21:33
- [2] Ghose, T.K. (1987). *Pure & App Chem* 59(2):257-268
- [3] Daroit *et al.* (2008). *J Microbiol Biotechnol* 18:933-941
- [4] Bailey *et al.* (1992). *J Biotechnol* 23:257-270
- [5] Miller, G.L. (1959). *Anal Chem* 31:426-428
- [6] Hu *et al.* (2011). *Biotechnol Biofuels* 4:36-49
- [7] Novello *et al.* (2014). *RSC Adv* 4:21361-21368

## Agradecimentos

