

AVALIAÇÃO DE PARAMETROS FÍSICO-QUÍMICOS NA AÇÃO DE CELULASES OBTIDAS NA FERMENTAÇÃO SUBMERSA DO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR POR UMA CEPA SELVAGEM DE *Fusarium oxysporum* (FLQT8-1)

LIMA, C. G¹; NASCIMENTO, J. P. L²; SILVA JUNIOR, J. W. B.²; LOPES, A. M.³; CASTRO, C. F. S⁴;

¹Estudante de Iniciação Científica – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Câmpus Rio Verde - GO. cleolimaramos@gmail.com; ²Colaborador – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Câmpus Rio Verde; ³Colaboradora – Universidade de Brasília - UnB.

⁴Orientador – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Câmpus Rio Verde - GO. carlosfscastro@gmail.com

RESUMO:Devido os altos custos dos combustíveis de fontes fósseis e dos impactos ambientais causados pelo seu intenso uso, a busca por fontes de energia renováveis tem aumentado no mundo todo, impulsionando o desenvolvimento de novas tecnologias, nesse sentido o etanol de segunda geração tem ganhado força nos últimos anos, porém sua tecnologia necessita de aprimoramento. Na produção de etanol de celulose as enzimas tem importância fundamental e chegam a representar até 18% do custo operacional, tornando necessários estudos que aprimorem a eficiência dessas enzimas. Este trabalho visou avaliar parâmetros físico-químicos como pH e temperatura na ação das celulases, para isto foram realizados experimentos com pH 4, 5, 6 e 7, ajustados com tampões apropriados, e nas temperaturas de 40, 50 e 60°C. As enzimas demonstraram atividade máxima em pH entre 6 e 7 e 50°C.

Palavras-chave: celulase, enzimas, biocombustível.

INTRODUÇÃO

Uma das vantagens de sua utilização de enzimas em processo industriais é o aumento do rendimento do produto gerado (MARQUES, 2013).

As tecnologias em desenvolvimento desse processo visam a diminuição dos custos operacionais já que no âmbito da produção de etanol a partir de material lignocelulósico, as celulases são insumos que chegam a representar até 18% do custo operacional (CASTRO, 2010).

O estudo das propriedades físico-químicas e bioquímicas das enzimas é de extrema importância para estabelecer em quais condições de processo o uso da enzima propiciará melhores resultados técnicos e econômicos para os processos biotecnológicos. Os valores ótimos de temperatura e pH, a estabilidade da atividade enzimática em função da temperatura, do pH e da estocagem em baixas temperaturas, assim como peso molecular e influência de cátions e ânions são algumas destas propriedades. (RABELO, 2010)

O conjunto de enzimas envolvidas na degradação da celulose é denominado complexo celulase. Esse complexo é dividido em três grupos: Endoglucanases (EC 3.2.1.4): enzimas responsáveis por iniciar a hidrólise e pela rápida solubilização do polímero celulósico, as quais hidrolisam randomicamente as regiões internas da estrutura amorfa da fibra celulósica, liberando oligossacarídeos e, conseqüentemente, novos terminais, sendo um reductor e um não reductor; Exoglucanases: enzimas divididas em celobiohidrolases (CBHs) e glucanohidrolases (GHs) (ZHANG, apud SANTOS, 2011). O presente trabalho teve como objetivo a avaliação da atividade celulolítica total através da capacidade de conversão de papel Whatman n°1 em Açúcares Redutores Totais em diferentes valores de pH e temperatura pelo *Fusarium oxysporum* FLQT8-1 na fermentação submersa de bagaço de cana-de-açúcar a fim de utilizá-las na hidrólise enzimática de materiais lignocelulósicos.

MATERIAL E MÉTODOS

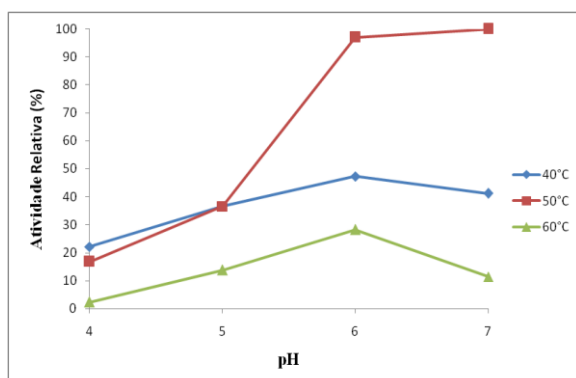
O microrganismo utilizado no estudo foi isolado do bagaço de cana-de-açúcar e a identificação molecular do mesmo foi realizada no Instituto Biológico de São Paulo-SP, Brasil. A extração do ADN do isolado foi realizada de acordo com protocolo descrito por Doyle & Doyle (1991).

O extrato enzimático bruto foi obtido através da fermentação submersa de bagaço de cana-de-açúcar 1% em meio basal esterilizado (Mandels & Weber, 1969). Para a avaliação da capacidade celulolítica total porções de papel de filtro Whatmann^o1 foram submetidas à hidrólise pelo caldo enzimático. As hidrólises foram conduzidas, em triplicata, em condições de pH 4, 5, 6 e 7, ajustados com tampões apropriados, e nas temperaturas de 40, 50 e 60 °C. A eficiência enzimática foi determinada através dos açúcares redutores totais liberados (MILLER, 1959).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados apresentados na Figura 1 mostram um máximo de atividade em pH 6-7 à 50°C, o que é um valor bastante diferente do pH utilizado na avaliação de atividades celulásicas baseadas no protocolo de Goose (1987) (pH 4,8). Além disto, as cepas de *Fusarium oxysporum* isoladas de diferentes locais do Brasil e do mundo já foram relatadas como produtores de enzimas hidrolíticas com interesse biotecnológico. Cada complexo enzimático contém enzimas com características singulares, por exemplo, manases produzidas pelo *Fusarium oxysporum* SS-25 (RANA et al., 2014) apresentaram atividade máxima em pH 4 e temperatura semelhante à atividade sinérgica das celulasas secretadas pelo *Fusarium oxysporum* FLQT8-1.

Figura 1-Representação gráfica da influência de pH e temperatura na atividade enzimática.



CONCLUSÃO

A partir desse experimento foi possível constatar uma faixa de pH e temperatura ótimos para a atividade enzimática. Sendo interessante avaliar a atividade enzimática de hidrolases que atuam na degradação de materiais lignocelósicos e estudar a viabilidade de seu isolamento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- DOYLE, J.J.; DOYLE, J.L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. **Phytochemical Bulletin**, v. 19, p. 11-15, 1987
- GHOSE, T.K. Measurement of cellulose activities. **Pure and Applied Chemistry**, v. 59, p. 257-268, 1987. DOI: 10.1351/pac198759020257.
- MANDELS, M.; WEBER, J. Production of cellulases. **Advances in Chemistry Series**, v. 95, p. 391-414, 1969.
- MARQUES, D. R.; COUTINHO, F. S.; RIBEIRO, P. A. F.; SILVA, J.A.; GRANJEIRO, P. A.; GONÇALVES, D. B.; GALDINO, A. S. Enzymatic hydrolysis of raw cassava starch and production by *Saccharomyces cerevisiae* CENPK2 expressing a glucoamylase from *Aspergillus awamori*. **Biochemistry and Biotechnology Reports**, v.2, n.4, p.22-29, 2013.
- RABELO, S. C. Avaliação e otimização de pré-tratamentos e hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar para a produção de etanol de segunda geração. **Doutorado**. Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas-SP, 2010.
- SANTOS, T. S.; AMORIM, G. M.; BONOMO, R.C.F.; FRANCO, M. Determinação da Atividade de CMC Case e FPase da Estipe fúngica *Rhizopus* sp. Através da Bioconversão do Resíduo de Seriguela (*Spondias Purpurea*). **UNOPAR Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, v13(3), p. 145-149, 2011.
- RANA, S. S.; JANVEJA, C.; SONI, S. K. A β -mannanase from *Fusarium oxysporum* SS-25 via solid state fermentation on brewer spent grain: medium optimization by statistical tools, kinetic characterization and its applications. **PrePrints**.2014.