

# XVII ENCONTRO DE JOVENS PESQUISADORES DA UCS - 2009

## Hidrólise Enzimática de Capim Elefante com Complexos Enzimáticos de *Penicillium echinulatum*, Visando a Produção de Etanol

Daiane Menegol, Maurício Bettio, Carolina Ritter Martins, Cristhian Limbacher Savegnago, Ana Rosa Costa Muniz, Luis Antonio Rezende Muniz, Marli Camassola, Aldo J.P. Dillon (orientador)

LABORATÓRIO DE ENZIMAS E BIOMASSA - INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA - UNIVERSIDADE DE CAXIAS DO SUL

### INTRODUÇÃO

Com a atual busca por fontes energéticas renováveis, o uso de biomassa lignocelulósica, como o capim elefante, apresenta-se como uma alternativa atrativa e promissora para a produção de etanol em larga escala a um custo competitivo. Além disso, o capim elefante pode ser cultivado em regiões onde a produtividade de cana-de-açúcar é reduzida. Um dos processos estudados para o aproveitamento desta biomassa é a hidrólise enzimática, onde empregam-se enzimas - celulases e xilanases - capazes de hidrolisar a celulose em açúcares fermentáveis. Todavia, é necessário a realização de pré-tratamento da biomassa para que esta torne-se mais acessível às enzimas

Este trabalho avaliou a possibilidade de hidrólise enzimática de capim elefante com a utilização do complexo enzimático de *Penicillium echinulatum* e desenvolveu diferentes condições para pré-tratamentos do capim. O efeito dos diferentes pré-tratamentos sobre a biomassa foi verificado por meio da hidrólise enzimática, dosando os açúcares redutores liberados na hidrólise enzimática.

### MATERIAIS E MÉTODOS

#### Microrganismo

Foram utilizadas enzimas - celulases e xilanases, produzidas a partir da linhagem mutante 9A02S1 de *Penicillium echinulatum* (microrganismo depositado no *Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen* - DSM 18942).

#### Pré-tratamento do capim elefante

As amostras de capim elefante, obtidas na cidade de Nova Petrópolis, foram trituradas e desidratadas a 60°C durante 3 dias. Em seguida, os pré-tratamentos serão realizados.

**Pré-tratamento físico a 200° C** - as amostras de capim elefante foram pré-tratadas com água quente a 200°C por cerca de 5 min. Após este período, o reator foi descarregado e o material coletado, seco a 105°C e empregado nos ensaios de hidrólise enzimática.

**Pré-tratamento físico a 120° C** - as amostras de capim elefante foram autoclavadas a 120°C durante 30 min. Após este período, o material foi seco a 105°C e empregado nos ensaios de hidrólise enzimática.

#### Hidrólise enzimática do capim elefante

A hidrólise enzimática foi realizada de acordo com Adsul *et al.* (2005), com algumas modificações. Em frascos de 250 mL foram adicionados 100 mL de tampão citrato de sódio (pH 4,8; 50 mM) e diferentes amostras de capim elefante pré-tratadas foram incubadas com caldo enzimático na presença de 0,01% (m/v) de azida sódica. Esta mistura foi incubada a 50°C, que é a condição ótima para a atividade enzimática de *P. echinulatum* (Camassola *et al.*, 2004), sob agitação de 150 rpm. Volumes de 2 mL foram coletados em diversos intervalos de tempo - no início do processo, a cada hora e, depois, em intervalos maiores - para análises de açúcares redutores (Miller, 1959).

Foram determinadas as atividades do caldo enzimático que foi empregado na hidrólise e, além disso, foram empregadas três concentrações de caldo enzimático, contendo 5, 10 e 15 FPA.g-1 de capim elefante pré-tratado. As hidrólises foram realizadas em triplicata.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como pode ser observado na Figura 1, as maiores concentrações testadas de celulases (10 e 15 FPA.g-1 de substrato) apresentaram maiores rendimentos de hidrólise. A granulometria também influenciou no rendimento da hidrólise, onde menores granulometrias apresentaram maiores rendimentos. Em relação a temperatura de pré-tratamento, observou-se que as amostras pré-tratadas a 200°C apresentaram maior rendimento que as amostras pré-tratadas a 120°C.

#### HIDRÓLISE ENZIMÁTICA

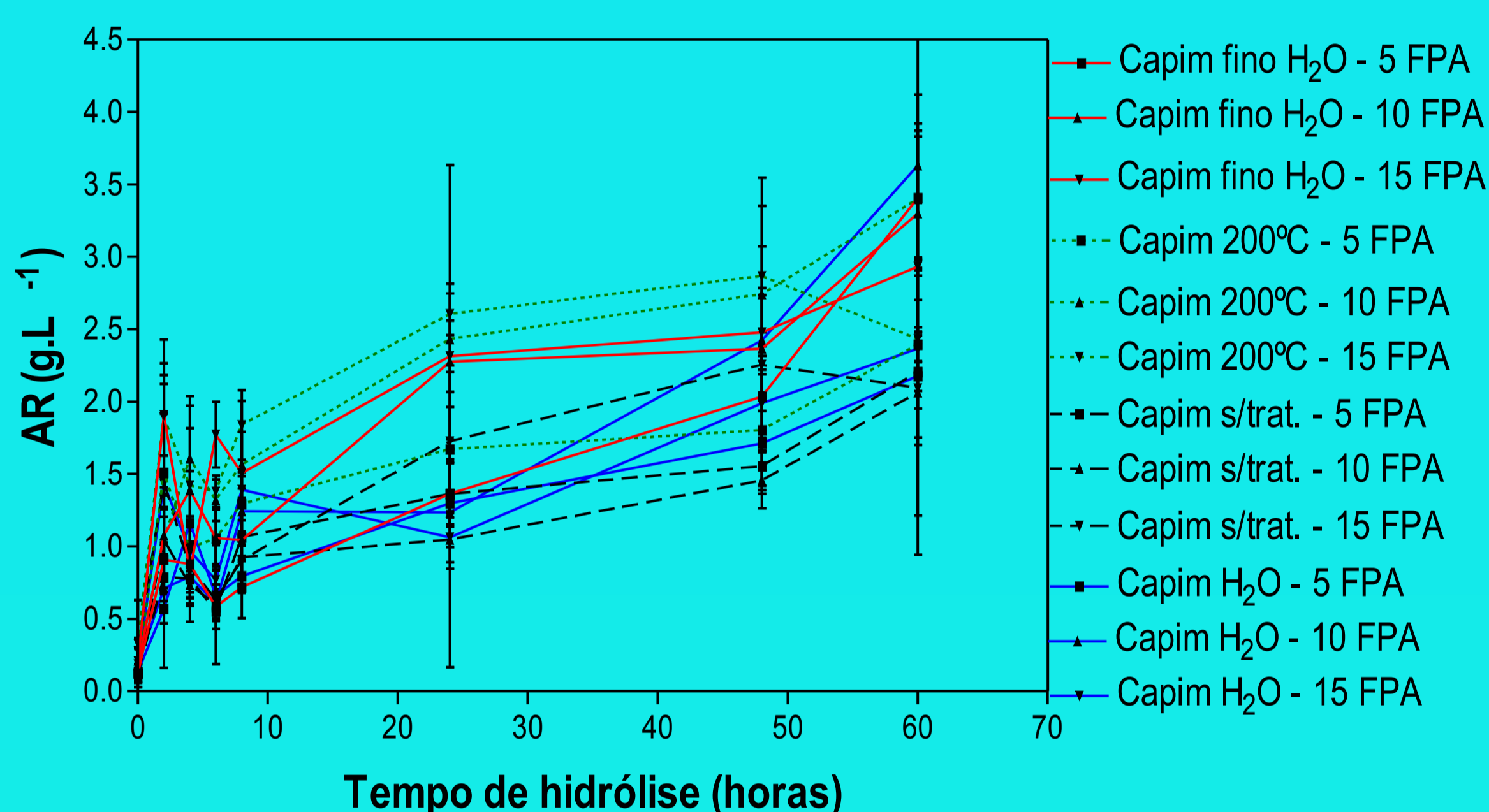


Figura 1. Açúcares redutores liberados na hidrólise de capim elefante pré-tratado com diferentes métodos. AR: açúcares redutores. As amostras de capim elefante denominadas como fino, apresentavam granulometria menor que 400 mesh, enquanto que as demais, apresentam granulometria maior que 400 mesh e menor que 1, 5 cm. O valor de FPA refere-se à quantidade de enzima adicionada por grama de capim elefante. O rendimento foi calculado a partir da massa inicial, em função de não ser conhecida a composição do material lignocelulósico.

### CONCLUSÕES

Estes dados, embora preliminares, indicam a possibilidade da hidrólise de capim elefante com o emprego de celulases de *P. echinulatum*. A utilização de biomassas alternativas, tal como o capim elefante, constitui-se em um importante acesso biotecnológico que contribui para obtenção de combustíveis renováveis e com menor potencial poluente que os combustíveis fósseis.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adsul, M.G.; Ghule, J.E.; Singh, R.; Shaikh, H.; Bastawde, K.B.; Gokhale, D.V.; Varma A.J. (2005). Enzymatic hydrolysis of delignified bagasse polysaccharides. *Carb. Polym.* 62: 6-10.
- Camassola, M.; Bittencourt, L.R.; Shenem, N.T.; Andraus, J.; Dillon, A.J.P. (2004). Characterization of the cellulase complex of *Penicillium echinulatum*. *Biocatal. Biotransform.* 22: 391-396.
- Miller, G.L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chemis.* 31: 426-428.

Apoio:

