

Bagaço de cana-de-açúcar hidrolisado para uso como substrato na caracterização de enzimas lignocelulolíticas

Teles Neto, Claudio Santos^{1}; Braga, Ana Carolina Linhares²; Salles, Hévila Oliveira³*

O bagaço de cana-de-açúcar (BCA), possui em sua composição principalmente celulose e hemicelulose que podem ser hidrolisadas para produção de etanol de segunda geração. O objetivo deste trabalho foi verificar se o BCA hidrolisado quimicamente poderia ser utilizado como substrato para a caracterização de enzimas lignocelulolíticas. O BCA foi desidratado em estufa a 105 °C por 24 horas e a partir da matéria seca foram feitos seis grupos de tratamentos. Um grupo controle (BCA *in natura*) pulverizado com 20 mL de água destilada e cinco grupos de BCA hidrolisados com 20 mL de uma solução contendo 10, 20, 30, 40 e 50% de NaOH, com base no peso da matéria seca. Após pulverização as amostras foram acondicionadas à temperatura ambiente por 24 horas, e secas a 65 oC por três dias, moídas (250 µm), lavadas com água destilada e novamente secadas a 65 oC para posterior uso. A atividade de celulase e hemicelulase frente aos substratos obtidos foram realizadas através de teste em placas com ágar 2% e substrato 1%, utilizando o tampão fosfato de sódio 0,1 M, em duas faixas e pH, uma mais adequada para avaliar a atividade de hemicelulase (pH 6,0) e outra mais propícia para a atividade da celulase (pH 6,9). Como enzima teste utilizou-se enzima de *Aspergillus niger* (Sigma-Aldrich®, 1,24 U/

mg) que possui tanto atividade de hemicelulase como de celulase. Os controles de substrato foram a carboximetilcelulose e o xilano. Os substratos com ágar foram esterilizados em autoclave a 121 °C por 20 minutos e depois despejados 10 mL nas placas até a solidificação. Foram feitos quatro poços com capacidade para 50 µL nas placas, onde três foram utilizados para repetições da enzima comercial (0,005 µg de proteína) e um como controle negativo com o mesmo tampão utilizado no preparo das placas. As placas foram incubadas em estufa à 38 °C por 21 horas e coradas com vermelho congo 0,1%, por 40 minutos e posteriormente descoradas com NaCl 1 M até o aparecimento dos halos. O diâmetro dos halos foi medido com auxílio de um paquímetro. A amostra que demonstrou uma maior atividade em relação aos substratos controles xilano (halo de 27,93 mm) e carboximetilcelulose (halo de 26,33 mm) foi o BCA hidrolisado com 20% NaOH, com halo de 31,91 mm no pH 6,0 e 28,78 mm no pH 6,9. Conclui-se ser o BCA hidrolisado com NaOH um excelente substrato, podendo ser melhor indicado para uso na prospecção e caracterização de enzimas lignocelulolíticas mais específicas para sua degradação do que os substratos comerciais.

Palavras-chave: Celulase, Xilanase, Hidróxido de sódio.

Suporte financeiro: Funcap e CNPq como fontes financiadoras das bolsas de iniciação científica e Embrapa (SEG 03.12.11.007.00.05) e CNPq (Processo 441531/2014-8) como fontes financiadoras da pesquisa.

¹Aluno do Curso de graduação em Medicina Veterinária do Instituto Superior de Tecnologia Aplicada, Bolsista BICT/Funcap/Embrapa.

²Aluna do Curso de graduação em Farmácia do Instituto Superior de Tecnologia Aplicada, Bolsista PIBIC/CNPq/Embrapa.

³Pesquisadora da Embrapa Caprinos e Ovinos, Orientadora.

*Apresentador do pôster: cneto12@yahoo.com.br