

Título: Prospecção de enzimas hidrolíticas usando substratos coloidais obtidos a partir de materiais lignocelulósicos com potencial aplicação na produção de etanol de segunda geração

Autor(es) Irapoan Bertholdo dos Santos Junior; Leile de Souza Lima; Ednildo Machado; Fernando Ariel Genta; Severino de Albuquerque Lucena Neto*

E-mail para contato: cbb.biociencias@gmail.com

IES: INMETRO / Rio de Janeiro

Palavra(s) Chave(s): bioetanol; enzimas; cupins; biotecnologia

RESUMO

Uma alternativa para a produção de etanol é a utilização de resíduos lignocelulósicos como fonte de açúcares. Uma das barreiras encontradas atualmente é o custo elevado e escassa tecnologia para converter materiais lignocelulósicos em etanol de alto rendimento. Esse trabalho tem como finalidade identificar em cupins (*Cornitermes cumulans*) enzimas com alto potencial de degradação dos resíduos lignocelulósicos para produção de etanol, assim como o desenvolvimento de novas metodologias para a medição de atividades enzimáticas em substratos complexos feitos a partir de materiais lignocelulósicos. A detecção das atividades enzimáticas em diferentes seções do tubo digestivo dos cupins (glândula salivar, intestinos anterior, médio e posterior) foi feita sobre os substratos amido, 4-Nitrofenil Beta-D-glicopiranosídeo, 4-Metilumbeliferil Alfa-D-glicopiranosídeo e carboximetil celulose (CMC), através de ensaio enzimático miniaturizado em termociclador. A quantificação de proteínas foi feita pelo método de Bradford. Para a produção de substratos feitos a partir de materiais lignocelulósicos, foram utilizadas três fontes de biomassa: cana-de-açúcar, fibra de coco e pseudocaule de bananeira. Os substratos foram preparados por moagem a seco ou úmida da biomassa em água destilada. O produto final foi autoclavado e armazenado sob refrigeração. Os açúcares totais foram medidos pelo método de fenol sulfúrico. As suspensões coloidais foram submetidas à microscopia eletrônica de varredura e de transmissão e a ensaios enzimáticos com uma enzima comercial (celulase de *Thricoderma viride*). A microscopia eletrônica mostrou diferenças marcantes entre estes substratos antes e depois de serem autoclavados. Todos os ensaios enzimáticos foram lineares até 24 horas, sendo altamente reprodutíveis. A atividade da celulase de *T. viride* contra suspensões de cana de açúcar foi semelhante às obtidas com substratos comerciais. Os ensaios para detecção de atividades enzimáticas nas diferentes seções do intestino dos cupins confirmaram a presença de enzimas com alto potencial para degradação de amido, Beta-glicosidade, Alfa-glicosidade e carboximetil celulose. Os resultados obtidos até o momento mostram que as enzimas secretadas pelo inseto são responsáveis pelas maiores atividades de celulasas do cupim (*Cornitermes cumulans*), em comparação com as enzimas secretadas pelos microorganismos no intestino posterior do inseto. A utilização de suspensões coloidais preparadas a partir de biomassas permite o desenvolvimento em menor escala de ensaios hidrolíticos lineares e reprodutíveis.