

V SIMPÓSIO DE BIOQUÍMICA E BIOTECNOLOGIA 05 a 07 de agosto de 2015, Londrina – PR

Capacidade Celulolítica De Fungos Isolados Do Cerrado Com Potencial Para a Produção De Etanol De Segunda Geração

Ana Paula da Silva ¹, Maria do Socorro Mascarenhas Santos ¹, Neliane Soares de Barros ¹, Namir Medeiro de Oliveira ², Geisa Alves da Silva ³, Jéssica da Silva do Carmo ² e Margareth Batistote ^{1,2}

¹ Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul- Curso de Tecnologia em Produção Sucroalcooleira
CEP 79730-000 – Glória de Dourados – MS - E-mail: nellyvitoria@hotmail.com

² Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul – Curso de Química Industrial CEP 79804-970-Dourados
MS

³ Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul – Curso Bacharel em Ciências Biológicas CEP 79804-970
Dourados – MS

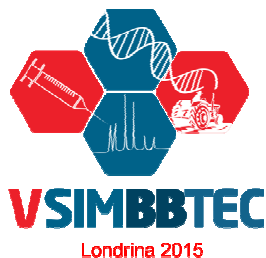
RESUMO

No estado do Mato Grosso do Sul, o setor sucroenergético tem se desenvolvido e o bagaço gerado do seu processo industrial, além de cogerar energia, pode ser utilizado para a produção de etanol de segunda geração. Neste contexto, o estudo visou isolar fungos coletados em diferentes regiões do cerrado, analisar seu crescimento em diferentes meios de cultura Agar Batata, Agar + Aveia, YPD e avaliar seu potencial para a produção de enzima celulase utilizando meio sintético com carboximetilcelulose. Os isolados apresentaram um melhor crescimento micelial no meio Ágar Batata (BDA) e nove isolados apresentaram halo de hidrólise da carboximetilcelulose meio sintético Carboximetilcelulose (CMC).

Palavras-chave: microrganismos, celulase, enzimas.

INTRODUÇÃO

O Brasil, devido às condições climáticas e por ser um país tropical, pode ser considerado o maior produtor de energia de biomassa. Portanto, considera-se que a grande quantidade de bagaço de cana-de-açúcar gerada pelos processos de produção de etanol torna-se matéria prima para outros processos produtivos, como a produção de mais etanol através de tecnologias portadoras de futuro, gerando emprego e desenvolvimento. A produtividade média de cana-de-açúcar para a safra 2014/2015 foi de 73.569 kg/ha com previsão de 671,69 milhões de toneladas de cana moída e etanol com produção estimada em 28,37 bilhões de litros, sendo que, 12,85 bilhões de litros serão de etanol anidro e 15,51 bilhões de litros serão de etanol hidratado (CONAB, 2014). A indústria sucroalcooleira produz em média 260 kg de bagaço por tonelada de cana moída (UNICA, 2011). A lignocelulose é o principal componente estrutural das plantas e representa uma importante fonte de matéria orgânica renovável. As propriedades químicas de seus componentes fazem dela um substrato de grande valor biotecnológico (MALHERBE; CLOETE, 2003). Materiais lignocelulósicos podem ser utilizados para a produção de



V SIMPÓSIO DE BIOQUÍMICA E BIOTECNOLOGIA

05 a 07 de agosto de 2015, Londrina – PR

biocombustíveis devido a sua abundância e ao custo, e podem ser classificados em quatro grupos de acordo com sua origem: (1) resíduos florestais, (2) resíduos sólidos urbanos, (3) resíduos de papel e (4) resíduos de culturas. Pesquisas com bagaço de cana, palha de arroz, palha de milho, e engaço de bananeira são relatadas (BALAT, 2011). Fungos basidiomicetos usam a celulose e a hemicelulose como substrato para seu crescimento e a degradação da lignina ocorre durante o metabolismo secundário, quando há escassez de nutrientes ou situações de estresse. O ataque do fungo à lignina é um processo aeróbio oxidativo e acontece em grupos fenóis, alifáticos e metóxidos tendo como resultado a despolimerização da lignina (KARP et al., 2012). Os fungos que decompõem substâncias lignocelulósicas ocorrem, geralmente, no solo colonizando raízes e resíduos vegetais, com importante função de reciclagem de nutrientes. Na natureza existe uma grande variedade de microrganismos que produzem celulasas, entretanto apenas alguns são conhecidos como celulolíticos verdadeiros, isto é, capazes de degradar a celulose natural (AGUIAR FILHO, 2008). Diante deste contexto, o estudo visou o isolamento de fungos do cerrado bem como analisou seu crescimento em diferentes meios de cultivo e avaliou o potencial para a produção de enzima celulase.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas amostras de fungos do cerrado sul mato-grossense. Os espécimes foram coletados com o auxílio de estilete ou manualmente. O material foi acondicionado em sacos de papel e transportado até o laboratório LAMAI (Laboratório de Microbiologia Ambiental e Industrial), para a assepsia e o isolamento. Fragmentos de tecidos dos fungos foram transferidos assepticamente para placas de Petri contendo três tipos de meios: Agar Batata, Agar + Aveia, YPD, previamente esterilizados a 120°C por 20 minutos, e adicionado o antibiótico (clorofenicol 50mg/mL), para evitar o crescimento de bactérias. As placas de Petri foram inoculadas em triplicata e incubadas a 28°C por 96 horas para observação do crescimento do micélio. A identificação dos fungos foi baseada na morfologia externa (cor e textura). Para a análise da atividade enzimática os isolados foram cultivados no meio Carboximetilcelulose (CMC) incubados a 30°C por 5 dias. Para a identificação do halo foram adicionados 10 mL da solução fixadora de vermelho congo em tampão Tris HCl pH 8,0. Decorrido 30 minutos a solução foi descartada e as placas lavadas com 5,0 mL da solução descolorante de NaCl 0,5 mol/L em tampão Tris-HCl pH 8,0 e seca ao ar livre, e os halos produzidos pela hidrólise de CMC foram medidos, pela análise da presença ou não de atividade enzimática.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram isolados 18 amostras de fungos coletados nos municípios de Glória de Dourados, Jateí e Rio Brilhante, cujas amostras apresentaram grande biodiversidade nas características morfológicas analisadas como: cores e aspectos da forma. O meio de cultivo que apresentou a melhor condição de crescimento para os fungos foram o meio Ágar Batata (BDA), como mostra a tabela 1.

V SIMPÓSIO DE BIOQUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
05 a 07 de agosto de 2015, Londrina – PR

Tabela 1- Avaliação do crescimento dos fungos obtidos do cerrado sul mato-grossense, isolados em diferentes meios de cultivo. + com crescimento; - sem crescimento.

Isolado	Meio de Cultivo Agar Batata	Meio de Cultivo Agar - Aveia	Meio de Cultivo YPD
Amostra 1	+	-	+
Amostra 2	+	+	+
Amostra 3	+	+	+
Amostra 4	+	+	-
Amostra 5	+	+	-
Amostra 6	+	+	+
Amostra 7	-	+	+
Amostra 8	+	+	+
Amostra 9	+	+	+
Amostra 10	+	+	-
Amostra 11	+	+	-
Amostra 12	+	+	+
Amostra 13	+	+	-
Amostra 14	+	-	-
Amostra 15	+	+	+
Amostra 16	+	-	+
Amostra 17	-	-	-
Amostra 18	-	-	-

Na avaliação da capacidade de degradação da celulose no meio CMC, nove isolados de fungos apresentaram atividade celulolítica e as amostras que apresentaram maiores halos de degradação foram as de número oito, dez e quatorze (figura 1). A prospecção de fungos produtores de celulasas é uma das possíveis estratégias para a obtenção das enzimas necessárias para hidrolisar o material lignocelulósico e, com isso, viabilizar a produção de etanol de segunda geração (DELABONA, 2011). Em estudos realizados por Bortolazzo (2011) utilizando fungos isolados do bagaço de cana apresentaram halos de atividade variando de 0,1mm a 1,8mm, em nossos estudos foram encontradas valores de variabilidade maior, como mostra a figura 1.

Compostos lignocelulósicos, normalmente são uma fonte abundante e de baixo custo produzidos pela própria planta. O bagaço uma biomassa tem potencial para a produção de bioenergia, no setor sucroenergético é queimado para a produção de energia e geração de calor. No entanto tem sido visto como uma promissora fonte para a produção de etanol de segunda geração (GALBE; ZACCHI, 2002; GOMEZ et al., 2008).

V SIMPÓSIO DE BIOQUÍMICA E BIOTECNOLOGIA

05 a 07 de agosto de 2015, Londrina – PR

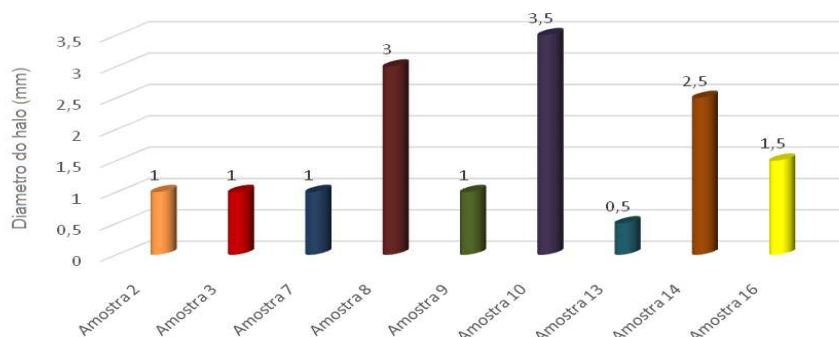


Figura 1 – Avaliação da atividade celulolítica dos isolados de fungos cultivados em meio sintético com carboximetilcelulose (CMC) diâmetro do halo = Øh (mm).

CONCLUSÕES

Na avaliação nos diferentes meios de cultivo o meio Ágar Batata foi o que apresentou melhor crescimento micelial para os isolados. Dentre os fungos isolados, três amostras apresentaram a capacidade de produção de celulase no meio carboximetilcelulose.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR FILHO, J. M. M. **Análise Enzimática de fungos lignocelulolíticos cultivados em vinhaça e bagaço de cana-de-açúcar**. 79 p. (Dissertação) Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. USP, Piracicaba, 2008.
- BALAT, M. Production of bioethanol from lignocellulosic materials via the biochemical pathway: A review. **Energy Conversion and Management**, v.52, p. 858-875, 2011.
- BORTOLAZZO, N. G. **Isolamento e Seleção de Fungos Celulolíticos para Hidrólise Enzimática do Bagaço de Cana-de-Açúcar**. 2011. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) – Esalq, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.
- Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar. – v. 1 – Brasília : Conab, 2013- v. Disponível em: <http://www.conab.gov.br>. Acesso em 23/06/2015.
- DELABONA, P. S. **Bioprospecção de Fungos Produtores de Celulases da Região Amazônica para Aplicação na Produção de Etanol Celulósico**. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal de São Carlos, p. 121, 2011.
- GALBE, M.; ZACCHI, G. A review of the production of ethanol from softwood. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.56, p.618-628, 2002.
- GOMES, L.D.; STEELE-KING, C. G.; MCQUEEN-MASON, S. J. Sustainable liquid biofuels from biomass: the writing's on the walls. **New Phytologist**, v.178, p.473-485, 2008.
- KARP, S. G.; FARACO.V.; AMORE.A.; BIROLO.L.; GIANGRANDE.C.; SOCCOL.T.V.; PANDEY.A.; SOCCO.R.C. Characterization of Laccase Isoforms Produced by *Pleurotostreatus* in Solid State Fermentation of Sugarcane Bagasse. **Bioresource Technology**, v.114, p.735-739, 2012.
- MALBERBE, S.; CLOETE, E.T. Lignocellulose biodegradation: Fundamentals and applications a review. **Environment Science Biotechnology**, v.1, p.105-114, 2003.
- UNICA - União da Indústria de Cana de açúcar. Conquistas do setor sucroenergético na matriz energética brasileira. Disponível em: <http://www.unica.com.br/faq/>, acesso em 10 Jun. de 2013.