

Concentração por ultrafiltração dos extratos enzimáticos de celulasas e xilanases produzidos por diferentes sistemas de cultivo

*Daniel Carrero Botta*¹
*Fernanda Marisa da Cunha*²
*Camila Florencio*³
*Alberto Colli Badino Jr*⁴
*Cristiane Sanchez Farinas*⁵

¹Aluno de graduação em Engenharia Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP, daniel.botta@bol.com.br;

²Aluna de doutorado em Engenharia Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP;

³Aluna de doutorado em Biotecnologia, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP;

⁴Professor associado do Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP;

⁵Pesquisadora, Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP.

Tendo em vista a crescente demanda energética e o apelo ambiental, os combustíveis produzidos a partir de fontes renováveis se tornaram uma importante alternativa às fontes minerais. Esses combustíveis, também chamados de renováveis ou de 2ª geração, são produzidos a partir da biomassa vegetal, rica em celulose. Uma das etapas fundamentais do processo, conhecida como hidrólise enzimática, pode ser conduzida através da utilização de enzimas hidrolíticas, cujo custo elevado ainda dificulta sua viabilidade econômica. Neste aspecto, a ultrafiltração apresenta-se como uma operação promissora para a obtenção de extratos enzimáticos estáveis e de elevada atividade enzimática, através da concentração das enzimas presentes, reduzindo assim o custo do processo. O trabalho em questão se propõe a estudar e desenvolver uma metodologia para a ultrafiltração de extratos enzimáticos produzidos a partir de diferentes sistemas de cultivo (fermentação em estado sólido (FES), fermentação submersa (FS) e combinada), a fim de concentrá-los e melhorar a eficiência da hidrólise enzimática, a partir da avaliação de diferentes aparelhagens, membranas, condições de operação (pressão e vazão) e as respectivas atividades das enzimas de interesse. Em todos os cultivos, utilizou-se o fungo filamentoso *Aspergillus niger*. O substrato para a FES foi constituído de farelo de trigo enriquecido com soluções 0,91% (NH₄)₂SO₄ e 0,1M HCl, distribuído em frascos Erlenmeyer. Os esporos crescidos em gelose foram suspensos com tween 80, diluídos e contados em câmaras de Neubauer, adotando-se 10⁷ esporos por grama de substrato para o inóculo. Os frascos foram inoculados, tampados e armazenados em estufa a 32°C por 48 horas. O extrato enzimático foi obtido após diluição em tampão acetato de sódio 0,2M pH 5,0, 30 minutos em shaker a 120 rpm, 15 minutos em centrífuga rotativa a 4°C e 10000 rpm e posterior filtração à vácuo. O extrato enzimático foi então ultrafiltrado em membranas de polietersulfona com diferentes diâmetros de corte, dispostas em tubos (Hollow Fiber) ou placas. A ultrafiltração foi operada em diferentes vazões (fixas em cada operação) com reciclo até que o volume inicial de extrato fosse concentrado dez vezes, respeitando-se a pressão máxima de operação fornecida pelo fabricante. Em vários instantes, coletou-se amostras de permeado e concentrado, que foram congeladas em ultrafreezer até realização de procedimentos para cálculo de suas atividades. Analisou-se as concentrações de xilanases, celulasas e β-glicosidades através da determinação da quantidade de açúcares redutores liberados durante a degradação de seus respectivos reagentes padrões. Experimentos futuros serão realizados utilizando as diferentes membranas e condições citadas.

Apoio financeiro: Embrapa.

Área: Agroenergia