

# IV SEMANA DO CONHECIMENTO

COMPARTILHANDO E FORTALECENDO  
REDES DE SABERES

6 A 10 DE NOVEMBRO DE 2017



Marque a opção do tipo de trabalho que está inscrevendo:

Resumo

Relato de Caso

## Sacarificação enzimática na biomassa de *Spirulina platensis*

**AUTOR PRINCIPAL:** Tainara Paula Machado

**CO-AUTORES:** Alan Rempel

**ORIENTADOR:** Luciane Maria Colla

**UNIVERSIDADE:** Universidade de Passo Fundo

### INTRODUÇÃO:

O desenvolvimento de novas fontes de combustíveis renováveis vem sendo estudado para substituição de combustíveis derivados de fontes agrícolas e dos combustíveis fósseis. O bioetanol produzido a partir de microalgas é considerado uma fonte de energia alternativa que pode colaborar na diminuição do uso de combustíveis petroquímicos (CHOI, NGUYEN, SIM, 2010).

Enzimas amilolíticas são necessárias na hidrólise enzimática dos polissacarídeos microalgais, tornando-os diretamente fermentescíveis. A imobilização de enzimas é uma técnica que permite o reuso ou uso contínuo destes biocatalisadores, permitindo a diminuição de custos, tempos de conversão e aumentando rendimento (VILLENEUVE, 2007).

Devido às questões atuais relacionadas à produção de bioetanol a partir de microalgas, objetivou-se obter açúcares fermentescíveis a partir da biomassa de *Spirulina platensis* LEB 52 pela ação de enzimas amilolíticas livres e imobilizadas, para posterior produção de bioetanol.

### DESENVOLVIMENTO:

Após o pré-tratamento, realizado pelo congelamento e descongelamento, para ruptura da célula de *Spirulina*, seguido de gelatinização da biomassa, foi realizado o estudo cinético do processo de sacarificação, avaliando-se a liberação de açúcares redutores nos tempos reacionais de 0, 6, 12 e 24 h. Foram utilizadas as enzimas  $\alpha$ -amilase e amiloglicosidase (AMG), produzidas pela Novozymes®, de forma livre e imobilizadas *in situ* pela reação de polimerização de monômeros de poliálcool poliéter e isocianato de tolueno 5:5 (v/v). As enzimas  $\alpha$ -amilase + AMG foram imobilizadas na forma combinada, nas proporções: 0,5 mL; 1,0 mL e 1,5 mL de cada enzima. Na

# IV SEMANA DO CONHECIMENTO

COMPARTILHANDO E FORTALECENDO REDES DE SABERES

6 A 10 DE NOVEMBRO DE 2017



sacarificação realizada com enzimas livres, estas foram utilizadas de forma conjunta, sendo: ensaio 1: 0,5 mL  $\alpha$ -amilase + 0,5 mL AMG; ensaio 2: 1,0 mL  $\alpha$ -amilase + 1,0 mL AMG e ensaio 3: 1,5 mL  $\alpha$ -amilase + 1,5 mL AMG. Na sacarificação utilizando enzimas imobilizadas, utilizou-se 1 g de suporte de cada volume imobilizado sendo: ensaio 4: 0,5 mL  $\alpha$ -amilase + 0,5 mL AMG; ensaio 5: 1,0 mL  $\alpha$ -amilase + 1,0 mL AMG e ensaio 6: 1,5 mL  $\alpha$ -amilase + 1,5 mL AMG.

As sacarificações enzimáticas foram realizadas utilizando-se biomassa de *S. platensis* na concentração de 20% (m/v) com composição de 60% de polissacarídeos. Com relação aos resultados (Figura 1a), na sacarificação com enzima livre, o ensaio 3 que possuía maior volume de enzimas, foi o que apresentou menor teor de AR (93,23 AR g/L) em comparação aos demais ensaios, o que mostra que a adição de maior volume de enzima não apresentou maiores liberação de AR, o que representa um superdimensionamento nas dosagens das enzimas, prejudicando as eficiências do processo. O ensaio que apresentou melhores resultados foi o ensaio 2 que era constituído na condição de 1% de enzima, resultando em 107,77 g/L AR formado. Nesta concentração de enzima foi possível realizar a sacarificação completa dos polissacarídeos da biomassa microalgal em 24 h de reação.

Na sacarificação com enzimas imobilizadas combinadas (Figura 1b) é possível evidenciar que em todos os ensaios as concentrações de AR aumentaram, e que os ensaios com os biocatalisadores imobilizados nas maiores concentrações obtiveram maiores transformações dos polissacarídeos. O ensaio 6 obteve maior valor de AR liberado (83,77 g/L) e se diferiu de todos os outros ensaios, por apresentar maior concentração dos biocatalisadores imobilizados.

As eficiências de sacarificação demonstraram que com quantidades inferiores de enzima utilizadas em condições de imobilizações (Tabela 1) resultaram em eficiências satisfatórias, se comparadas às eficiências com enzima livre. Porém, em condições de biocatalisadores livres, as quantidades de enzimas são superiores se comparadas às condições com enzimas imobilizadas. Melhores eficiências com enzimas imobilizadas são citadas devido a que, os materiais utilizados como suportes, protegem o biocatalisador às condições adversas de temperatura e pH, aumentando assim as atividades específicas das mesmas.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS:

Na sacarificação dos polissacarídeos da *Spirulina platensis*, os volumes adicionados de biocatalisadores livres necessários são superiores quando comparados aos de enzimas imobilizadas para que se obtenha semelhantes eficiências no processo. Assim, a imobilização se torna um processo vantajoso por utilizar menor quantidade de enzima e resultar em menor custo em relação a enzima livre.

# IV SEMANA DO CONHECIMENTO

COMPARTILHANDO E FORTALECENDO  
REDES DE SABERES

6 A 10 DE NOVEMBRO DE 2017



## REFERÊNCIAS:

BUSTAMANTE-VARGAS, C. E.; DE OLIVEIRA, D.; NYARI, N. L. D.; VALDUGA, E., DALLAGO, R. M. In situ immobilization of commercial pectinase in rigid polyurethane foam and application in the hydrolysis of pectic oligosaccharides. **Journal of Mol. Catalysis B: Enzymatic**, v. 122, p.35-43, 2015.

CHOI, S.P.; NGUYEN, M.T.; SIM S.J.; Enzymatic pretreatment of *Chlamydomonas reinhardtii* biomass for ethanol production. **Bior. Technology**, v.101, p. 5330–5336, 2010.

SINGHANIA, R; PATEL, A. K; SUKUMARAN, K; LARROCHE, C; Role and significance of beta-glucosidases in the hydrolysis of cellulose for bioethanol production. **Bioresour. Technol**, v. 127, p. 500–507, 2012.

VILLENEUVE, P. Lipases in lipophilization reactions. **Biot. Advances**, v. 25, p. 515– 536, 2007.

# IV SEMANA DO CONHECIMENTO

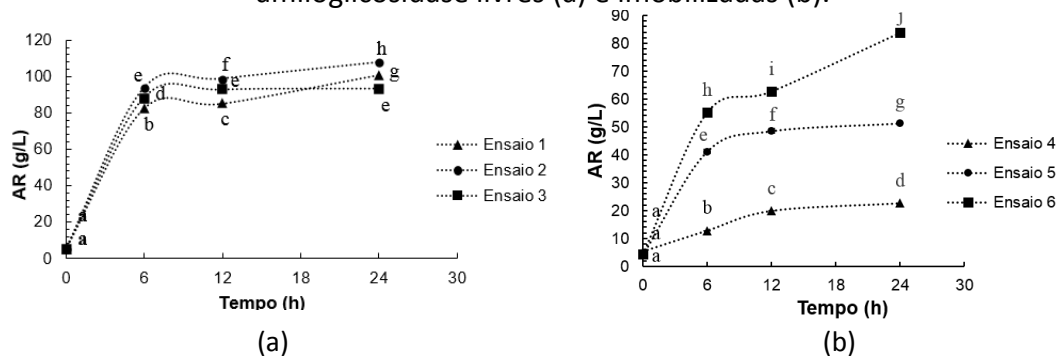
COMPARTILHANDO E FORTALECENDO REDES DE SABERES

6 A 10 DE NOVEMBRO DE 2017



## ANEXOS:

Figura 1-Açúcares redutores formados nas sacarificações com enzimas  $\alpha$ -amilase e amiloglicosidase livres (a) e imobilizadas (b).



Ensaio 1: (0,5 mL  $\alpha$ -amilase + 0,5 mL AMG); Ensaio 2: (1,0 mL  $\alpha$ -amilase + 1,0 mL AMG); Ensaio 3: (1,5 mL  $\alpha$ -amilase + 1,5 mL AMG); Ensaio 4: (1,0 g de suporte das enzimas imobilizadas em conjunto a concentração 0,5 mL); Ensaio 5: (1,0 g de suporte das enzimas imobilizadas em conjunto 1,0 mL) Ensaio 6: (1,0 g de suporte das enzimas imobilizadas em conjunto 1,5 mL). \*Médias seguidas de letras iguais não apresentam diferença significativa entre si num nível de 95% de confiança (média $\pm$ dp). \* Em cada linha, médias seguidas de letras iguais não apresentam diferença significativa entre si num nível de 95% de confiança (média $\pm$ dp).

Tabela 1- Comparativo de eficiência entre as sacarificações realizadas em diferentes condições das enzimas

Condição/Enzimas*	Quantidade de enzima (mL)	CHO** (%)	AR após 24h (g/L)	Eficiência (%)
1 - $\alpha$ -amilase + 0,5 AMG	1	60,0	100,77	92,59
2 - 1,0 $\alpha$ -amilase + 1,0 AMG	2	60,0	107,77	99,83
3 - 1,5 $\alpha$ -amilase + 1,5 AMG	3	60,0	93,23	86,32
4 - 0,5 $\alpha$ -amilase + 0,5 AMG	0,106	55,94	22,64	22,48
5 - 1,0 $\alpha$ -amilase + 1,0 AMG	0,187	55,94	51,25	50,89
6 - 1,5 $\alpha$ -amilase + 1,5 AMG	0,273	55,94	83,77	83,19

\* Ensaio 1, 2 e 3 = enzimas livres; Ensaio 4, 5 e 6 = enzimas imobilizadas em conjunto.

\*\*CHO=carboidratos