

Tópicos Multidisciplinares em Ciências Biológicas 3

Edson da Silva
(Organizador)



Tópicos Multidisciplinares em Ciências Biológicas 3

Edson da Silva
(Organizador)



Atena
Editora

Ano 2020

Editora Chefe

Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Assistentes Editoriais

Natalia Oliveira

Bruno Oliveira

Flávia Barão

Bibliotecário

Maurício Amormino Júnior

Projeto Gráfico e Diagramação

Natália Sandrini de Azevedo

Camila Alves de Cremo

Karine de Lima

Luiza Batista 2020 by Atena Editora

Maria Alice Pinheiro Copyright © Atena Editora

Edição de Arte Copyright do Texto © 2020 Os autores

Luiza Batista Copyright da Edição © 2020 Atena Editora

Revisão Direitos para esta edição cedidos à Atena Editora

Os Autores pelos autores.



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição *Creative Commons*. Atribuição 4.0 Internacional (CC BY 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores, inclusive não representam necessariamente a posição oficial da Atena Editora. Permitido o *download* da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

A Atena Editora não se responsabiliza por eventuais mudanças ocorridas nos endereços convencionais ou eletrônicos citados nesta obra.

Conselho Editorial

Ciências Humanas e Sociais Aplicadas

Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Alexandre Jose Schumacher – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso

Prof. Dr. Américo Junior Nunes da Silva – Universidade do Estado da Bahia

Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof. Dr. Antonio Gasparetto Júnior – Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais

Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília

Prof. Dr. Carlos Antonio de Souza Moraes – Universidade Federal Fluminense

Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa

Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia

Prof. Dr. Edvaldo Antunes de Farias – Universidade Estácio de Sá

Prof. Dr. Elson Ferreira Costa – Universidade do Estado do Pará

Prof. Dr. Eloi Martins Senhora – Universidade Federal de Roraima

Prof. Dr. Gustavo Henrique Cepolini Ferreira – Universidade Estadual de Montes Claros
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Instituto Internazionale delle Figlie de Maria Ausiliatrice
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Prof. Dr. Luis Ricardo Fernandes da Costa – Universidade Estadual de Montes Claros
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Marcelo Pereira da Silva – Pontifícia Universidade Católica de Campinas
Profª Drª Maria Luzia da Silva Santana – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Rita de Cássia da Silva Oliveira – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof. Dr. Rui Maia Diamantino – Universidade Salvador
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. William Cleber Domingues Silva – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Ciências Agrárias e Multidisciplinar

Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano
Prof. Dr. Antonio Pasqualetto – Pontifícia Universidade Católica de Goiás
Prof. Dr. Cleberton Correia Santos – Universidade Federal da Grande Dourados
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
Profª Drª Diocléa Almeida Seabra Silva – Universidade Federal Rural da Amazônia
Prof. Dr. Écio Souza Diniz – Universidade Federal de Viçosa
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Fágner Cavalcante Patrocínio dos Santos – Universidade Federal do Ceará
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof. Dr. Jael Soares Batista – Universidade Federal Rural do Semi-Árido
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Profª Drª Lina Raquel Santos Araújo – Universidade Estadual do Ceará
Prof. Dr. Pedro Manuel Villa – Universidade Federal de Viçosa
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Profª Drª Talita de Santos Matos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Tiago da Silva Teófilo – Universidade Federal Rural do Semi-Árido
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

Ciências Biológicas e da Saúde

Prof. Dr. André Ribeiro da Silva – Universidade de Brasília
Profª Drª Anelise Levay Murari – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás
Prof. Dr. Douglas Siqueira de Almeida Chaves -Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
Profª Drª Eleuza Rodrigues Machado – Faculdade Anhanguera de Brasília
Profª Drª Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina
Profª Drª Eysler Gonçalves Maia Brasil – Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira
Prof. Dr. Ferlando Lima Santos – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Profª Drª Gabriela Vieira do Amaral – Universidade de Vassouras
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. Helio Franklin Rodrigues de Almeida – Universidade Federal de Rondônia
Profª Drª Iara Lúcia Tescarollo – Universidade São Francisco
Prof. Dr. Igor Luiz Vieira de Lima Santos – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Jesus Rodrigues Lemos – Universidade Federal do Piauí
Prof. Dr. Jônatas de França Barros – Universidade Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof. Dr. Luís Paulo Souza e Souza – Universidade Federal do Amazonas
Profª Drª Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Marcus Fernando da Silva Praxedes – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Profª Drª Mylena Andréa Oliveira Torres – Universidade Ceuma
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Paulo Inada – Universidade Estadual de Maringá
Profª Drª Regiane Luz Carvalho – Centro Universitário das Faculdades Associadas de Ensino
Profª Drª Renata Mendes de Freitas – Universidade Federal de Juiz de Fora
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

Ciências Exatas e da Terra e Engenharias

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto
Prof. Dr. Alexandre Leite dos Santos Silva – Universidade Federal do Piauí
Prof. Dr. Carlos Eduardo Sanches de Andrade – Universidade Federal de Goiás
Profª Drª Carmen Lúcia Voigt – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Douglas Gonçalves da Silva – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará
Profª Dra. Jéssica Verger Nardeli – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho
Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Luciana do Nascimento Mendes – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Marcelo Marques – Universidade Estadual de Maringá
Profª Drª Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

Linguística, Letras e Artes

Profª Drª Adriana Demite Stephani – Universidade Federal do Tocantins
Profª Drª Angeli Rose do Nascimento – Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro
Profª Drª Denise Rocha – Universidade Federal do Ceará
Prof. Dr. Fabiano Tadeu Grazioli – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Profª Drª Keyla Christina Almeida Portela – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso
Profª Drª Miranilde Oliveira Neves – Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará
Profª Drª Sandra Regina Gardacho Pietrobon – Universidade Estadual do Centro-Oeste
Profª Drª Sheila Marta Carregosa Rocha – Universidade do Estado da Bahia

Conselho Técnico Científico

- Prof. Me. Abrãao Carvalho Nogueira – Universidade Federal do Espírito Santo
Prof. Me. Adalberto Zorzo – Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza
Prof. Me. Adalto Moreira Braz – Universidade Federal de Goiás
Prof. Dr. Adaylson Wagner Sousa de Vasconcelos – Ordem dos Advogados do Brasil/Seccional Paraíba
Prof. Dr. Adilson Tadeu Basquerote Silva – Universidade para o Desenvolvimento do Alto Vale do Itajaí
Prof. Me. Alexsandro Teixeira Ribeiro – Centro Universitário Internacional
Prof. Me. André Flávio Gonçalves Silva – Universidade Federal do Maranhão
Prof^a Ma. Anne Karynne da Silva Barbosa – Universidade Federal do Maranhão
Prof^a Dr^a Andreza Lopes – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Acadêmico
Prof^a Dr^a Andrezza Miguel da Silva – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia
Prof. Dr. Antonio Hot Pereira de Faria – Polícia Militar de Minas Gerais
Prof. Me. Armando Dias Duarte – Universidade Federal de Pernambuco
Prof^a Ma. Bianca Camargo Martins – UniCesumar
Prof^a Ma. Carolina Shimomura Nanya – Universidade Federal de São Carlos
Prof. Me. Carlos Antônio dos Santos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Ma. Cláudia de Araújo Marques – Faculdade de Música do Espírito Santo
Prof^a Dr^a Cláudia Taís Siqueira Cagliari – Centro Universitário Dinâmica das Cataratas
Prof. Me. Daniel da Silva Miranda – Universidade Federal do Pará
Prof^a Ma. Daniela da Silva Rodrigues – Universidade de Brasília
Prof^a Ma. Daniela Remião de Macedo – Universidade de Lisboa
Prof^a Ma. Dayane de Melo Barros – Universidade Federal de Pernambuco
Prof. Me. Douglas Santos Mezacas – Universidade Estadual de Goiás
Prof. Me. Edevaldo de Castro Monteiro – Embrapa Agrobiologia
Prof. Me. Eduardo Gomes de Oliveira – Faculdades Unificadas Doctum de Cataguases
Prof. Me. Eduardo Henrique Ferreira – Faculdade Pitágoras de Londrina
Prof. Dr. Edwaldo Costa – Marinha do Brasil
Prof. Me. Eliel Constantino da Silva – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita
Prof. Me. Euvaldo de Sousa Costa Junior – Prefeitura Municipal de São João do Piauí
Prof^a Ma. Fabiana Coelho Couto Rocha Corrêa – Centro Universitário Estácio Juiz de Fora
Prof. Dr. Fabiano Lemos Pereira – Prefeitura Municipal de Macaé
Prof. Me. Felipe da Costa Negrão – Universidade Federal do Amazonas
Prof^a Dr^a Germana Ponce de Leon Ramírez – Centro Universitário Adventista de São Paulo
Prof. Me. Gevair Campos – Instituto Mineiro de Agropecuária
Prof. Dr. Guilherme Renato Gomes – Universidade Norte do Paraná
Prof. Me. Gustavo Krahl – Universidade do Oeste de Santa Catarina
Prof. Me. Helton Rangel Coutinho Junior – Tribunal de Justiça do Estado do Rio de Janeiro
Prof^a Ma. Isabelle Cerqueira Sousa – Universidade de Fortaleza
Prof^a Ma. Jaqueline Oliveira Rezende – Universidade Federal de Uberlândia
Prof. Me. Javier Antonio Albornoz – University of Miami and Miami Dade College
Prof. Me. Jhonatan da Silva Lima – Universidade Federal do Pará
Prof. Dr. José Carlos da Silva Mendes – Instituto de Psicologia Cognitiva, Desenvolvimento Humano e Social
Prof. Me. Jose Elyton Batista dos Santos – Universidade Federal de Sergipe
Prof. Me. José Luiz Leonardo de Araujo Pimenta – Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria Uruguay
Prof. Me. José Messias Ribeiro Júnior – Instituto Federal de Educação Tecnológica de Pernambuco

Profª Drª Juliana Santana de Curcio – Universidade Federal de Goiás
Profª Ma. Juliana Thaisa Rodrigues Pacheco – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Kamilly Souza do Vale – Núcleo de Pesquisas Fenomenológicas/UFPA
Prof. Dr. Kárpio Márcio de Siqueira – Universidade do Estado da Bahia
Profª Drª Karina de Araújo Dias – Prefeitura Municipal de Florianópolis
Prof. Dr. Lázaro Castro Silva Nascimento – Laboratório de Fenomenologia & Subjetividade/UFPR
Prof. Me. Leonardo Tullio – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Ma. Lilian Coelho de Freitas – Instituto Federal do Pará
Profª Ma. Liliani Aparecida Sereno Fontes de Medeiros – Consórcio CEDERJ
Profª Drª Lívia do Carmo Silva – Universidade Federal de Goiás
Prof. Me. Lucio Marques Vieira Souza – Secretaria de Estado da Educação, do Esporte e da Cultura de Sergipe
Prof. Me. Luis Henrique Almeida Castro – Universidade Federal da Grande Dourados
Prof. Dr. Luan Vinicius Bernardelli – Universidade Estadual do Paraná
Prof. Dr. Michel da Costa – Universidade Metropolitana de Santos
Prof. Dr. Marcelo Máximo Purificação – Fundação Integrada Municipal de Ensino Superior
Prof. Me. Marcos Aurelio Alves e Silva – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo
Profª Ma. Maria Elanny Damasceno Silva – Universidade Federal do Ceará
Profª Ma. Marileila Marques Toledo – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
Prof. Me. Ricardo Sérgio da Silva – Universidade Federal de Pernambuco
Prof. Me. Rafael Henrique Silva – Hospital Universitário da Universidade Federal da Grande Dourados
Profª Ma. Renata Luciane Polsaque Young Blood – UniSecal
Prof. Me. Sebastião André Barbosa Junior – Universidade Federal Rural de Pernambuco
Profª Ma. Silene Ribeiro Miranda Barbosa – Consultoria Brasileira de Ensino, Pesquisa e Extensão
Profª Ma. Solange Aparecida de Souza Monteiro – Instituto Federal de São Paulo
Prof. Me. Tallys Newton Fernandes de Matos – Faculdade Regional Jaguaribana
Profª Ma. Thatianny Jasmine Castro Martins de Carvalho – Universidade Federal do Piauí
Prof. Me. Tiago Silvio Dedoné – Colégio ECEL Positivo
Prof. Dr. Welleson Feitosa Gazel – Universidade Paulista

Tópicos multidisciplinares em ciências biológicas

3

Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira
Bibliotecário: Maurício Amormino Júnior
Diagramação: Camila Alves de Cremo
Edição de Arte: Luiza Batista
Revisão: Os Autores
Organizador: Edson da Silva

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)

T673 Tópicos multidisciplinares em ciências biológicas 3 [recurso eletrônico] / Organizador Edson da Silva. – Ponta Grossa, PR: Atena, 2020.

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

ISBN 978-65-5706-226-5

DOI 10.22533/at.ed.265202407

1. Ciências biológicas – Pesquisa – Brasil. I. Silva, Edson da.
CDD 570

Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422

Atena Editora

Ponta Grossa – Paraná – Brasil

Telefone: +55 (42) 3323-5493

www.atenaeditora.com.br

contato@atenaeditora.com.br


Ano 2020

APRESENTAÇÃO

A coleção “Tópicos Multidisciplinares em Ciências Biológicas” é uma obra composta por estudos de diferentes áreas das ciências biológicas e da saúde. A obra foi ampliada e recebeu mais 47 capítulos distribuídos em três volumes. Os e-books foram organizados por trabalhos resultantes de pesquisas, ensaios teóricos e vivências dos autores.

As ciências biológicas englobam áreas do conhecimento relacionadas às ciências da vida e incluem a biologia, a saúde humana e a saúde animal. Nesta obra, apresento textos completos e atuais sobre estudos desenvolvidos durante a formação acadêmica ou na prática profissional. Os autores são filiados a diversos cursos de graduação e de pós-graduação em ciências biológicas, saúde, tecnologia e áreas afins.

Em seus 15 capítulos o volume 3 aborda, de forma categorizada, os trabalhos de pesquisas e revisões narrativas ou ensaios teóricos que transitam nos vários caminhos da atuação em ciências biológicas e áreas correlatas. Neste volume você encontra textos sobre biologia celular e molecular, microbiologia, meio ambiente e muito mais.

Espero que as experiências compartilhadas neste volume contribuam para o enriquecimento de novas práticas profissionais com olhares multidisciplinares para as ciências biológicas e suas áreas afins. Agradeço aos autores que tornaram essa edição possível e desejo uma ótima leitura a todos.

Edson da Silva

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	1
CLONAGEM MOLECULAR DA L-ASPARAGINASE DE <i>PROTEUS VULGARIS</i> EM VETOR DE EXPRESSÃO PARA FUSÃO À PROTEÍNA SUMO	
Iago Almeida da Ponte Cícero Matheus Lima Amaral Davi Almeida Freire Arnaldo Solheiro Bezerra Bruno Bezerra da Silva Maria Izabel Florindo Guedes	
DOI 10.22533/at.ed.2652024071	
CAPÍTULO 2	6
PROTEASES AND THEIR INHIBITORS IN COAGULATION AND INFLAMMATION	
Gabriella Silva Campos Carelli Joelton Igor Oliveira da Cruz Luciana Maria Araújo Rabêlo Bruno Oliveira de Veras Geovanna Maria de Medeiros Moura Jorge Anderson Nascimento dos Santos Antônio Moreira Marques Neto Anderson Felipe Jácome de França Yago Queiroz dos Santos	
DOI 10.22533/at.ed.2652024072	
CAPÍTULO 3	17
CRIOPRESERVAÇÃO DAS CÉLULAS TUMORAIS DE EHRlich	
Beatriz Tessaroto Buscarino Silvia Regina Kleeb Carlos Pereira Araújo de Melo	
DOI 10.22533/at.ed.2652024073	
CAPÍTULO 4	28
ANÁLISE BIBLIOGRÁFICA DE microRNAs ENVOLVIDOS POR INFECÇÕES POR ARBOVIROSES DA FAMÍLIA FLAVIVIRIDAE	
Marcos Daniel Mendes Padilha Gustavo Moraes Holanda Ludmilla Ferreira Costa	
DOI 10.22533/at.ed.2652024074	
CAPÍTULO 5	31
POTENTIAL PHARMACOLOGICAL APPLICATIONS OF LECTINS	
Geovanna Maria de Medeiros Moura Antônio Moreira Marques Neto Rayana Vanessa da Costa Lima Gabriella Silva Campos Carelli Joelton Igor Oliveira da Cruz Luciana Maria Araújo Rabêlo Anderson Felipe Jácome de França Bruno Oliveira de Veras Yago Queiroz dos Santos	
DOI 10.22533/at.ed.2652024075	

CAPÍTULO 643

PRODUÇÃO DE UM CONSÓRCIO ENZIMÁTICO VISANDO OBTENÇÃO DE ETANOL 2G A PARTIR DO BAGAÇO DE CANA

Ignácio Martins Pinho
Ana Sílvia de Almeida Scarcella
Maria de Lourdes Teixeira de Moraes Polizeli

DOI 10.22533/at.ed.2652024076

CAPÍTULO 767

CARACTERIZAÇÃO DA GERAÇÃO DO SULFETO DE HIDROGÊNIO (H₂S) EM TECIDOS DE CAMUNDONGOS COM SENESCÊNCIA ACELERADA (SAMP8)

Simone Aparecida Teixeira
Gabriel Luciano Gomes
Leandro Rodrigues
Flávia Neto de Jesus
Antonio Garcia Soares
Anderson Romério Azevedo Cerqueira
Karla Barroso Feitosa
Karina Barbosa Alves
Larissa Regina Silva de Oliveira
Eliana Hiromi Akamine
Marcelo Nicolás Muscará
Soraia Kátia Pereira Costa

DOI 10.22533/at.ed.2652024077

CAPÍTULO 879

UTILIZAÇÃO DE POLPA DE ABACATE NA PRODUÇÃO DE BIOTENSOATIVO POR *Bacillus cereus*

Sumária Sousa e Silva
Viviany Martins Bento
Lainy Waleska de Brito Sodré
José Wilson Pires Carvalho
Sumaya Ferreira Guedes
Raquel Aparecida Loss

DOI 10.22533/at.ed.2652024078

CAPÍTULO 991

REAÇÕES BIOCATALÍTICAS COMO POTENCIAL PARA OBTENÇÃO DE BIOPRODUTOS

Magno de Lima Silva
Wellyson Journey dos Santos Silva
Natasha Matos Monteiro
Allana Kellen Lima Santos Pereira

DOI 10.22533/at.ed.2652024079

CAPÍTULO 1099

EFEITO DE SUBSTÂNCIAS HÚMICAS NO CRESCIMENTO RADICULAR DE *CHLOROLEUCON DUMOSUM* (BENTH) G. P. LEWIS

Maria Janiele Barbosa de Farias Pereira
Roberta Samara Nunes de Lima
Alaide Maria Silva Santos
Joseliane Fernandes Miguel dos Santos
Wander Gustavo Botero
Flávia de Barros Prado Moura
Jakson Leite

DOI 10.22533/at.ed.26520240710

CAPÍTULO 11 106

ASPECTOS ECOLÓGICOS DA POLINIZAÇÃO de *Ruellia asperula* (MART. EX NEES) LINDAU EM ÁREAS DE CAATINGA SUBMETIDAS A DIFERENTES MANEJOS

Breno Costa Figueiredo
Mikael Alves de Castro
Sabrina Silva Oliveira
Gabrielle Kathelin Martins da Silva
Ana Carolina Sabino de Oliveira
Mychelle de Sousa Fernandes
Jefferson Thiago Souza

DOI 10.22533/at.ed.26520240711

CAPÍTULO 12 116

PLANTAS TÓXICAS ENCONTRADAS NOS PASTOS DA FAZENDA ESCOLA DO CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA DO UNIFESO, TERESÓPOLIS/RJ

Lucas Cavalcante de Moura
Luciana Cavalcante de Moura
Fernanda Stefany Nunes Costa
George Azevedo de Queiroz
André Vianna Martins

DOI 10.22533/at.ed.26520240712

CAPÍTULO 13 125

DADOS ALIMENTARES E REPRODUTIVOS DE *Knodus moenkhausii*, (EIGENMANN E KENNEDY, 1903), DA SUB-BACIA DO RIO QUEIMA-PÉ EM TANGARÁ DA SERRA-MT

Divina Sueide de Godoi
Joelson Viana Nogueira
Luiz Antonio Jacyntho
Cristiane Regina do Amaral Duarte
Jhonathan Ferreira Santos Maceno

DOI 10.22533/at.ed.26520240713

CAPÍTULO 14 137

ETNOCONHECIMENTO SOBRE POLINIZAÇÃO EM UMA COMUNIDADE RURAL DA REGIÃO SEMIÁRIDA

Bruna Letícia Pereira Braga
José Vinícius Oliveira Silva
Gabrielle Kathelin Martins da Silva
Fernanda Fernandes da Silva
Marlos Dellan de Souza Almeida
Célio Moura Neto
Jefferson Thiago Souza

DOI 10.22533/at.ed.26520240714

CAPÍTULO 15 149

AValiação DE TRABALHOS PUBLICADOS EM ENCONTROS UNIVERSITÁRIOS SOBRE O IMPACTO AMBIENTAL NO ESTADO DO CEARÁ, BRASIL

Marcos Adelino Almeida Filho
Josiany Costa de Souza
Lucas Farias Pinheiro
Manuella Maciel Gomes
Isabelly Maria Barros de Lima
Itatiaia de Souza Sampaio
Lydia Dayanne Maia Pantoja

DOI 10.22533/at.ed.26520240715

SOBRE O ORGANIZADOR..... 162

ÍNDICE REMISSIVO 163

PRODUÇÃO DE UM CONSÓRCIO ENZIMÁTICO VISANDO OBTENÇÃO DE ETANOL 2G A PARTIR DO BAGAÇO DE CANA

Data de aceite: 01/07/2020

Data de submissão: 03/04/2020

Ignácio Martins Pinho

Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de
Ribeirão Preto, USP-RP, Departamento de
Biologia

Ribeirão Preto - SP

<http://lattes.cnpq.br/4709196539100068>

Ana Sílvia de Almeida Scarcella

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP-
RP, Departamento de Bioquímica e Imunologia
Ribeirão Preto - SP

<http://lattes.cnpq.br/1995775844571462>

Maria de Lourdes Teixeira de Moraes Polizeli

Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de
Ribeirão Preto, USP-RP, Departamento de
Biologia

Ribeirão Preto - SP

<http://lattes.cnpq.br/0162059400153020>

RESUMO: Com a crescente busca por fontes alternativas de energia, o bagaço da cana, por ser um resíduo agroindustrial rico em celulose e hemicelulose, é apontado como uma fonte potencial para produção de bioetanol. Entretanto, a produção a níveis industriais de etanol de segunda geração ainda não é economicamente

viável devido ao alto custo do processo. Nesse contexto, este trabalho teve como objetivo um aumento da eficiência de uma das etapas deste processo: a sacarificação do bagaço da cana realizada por enzimas originárias dos fungos filamentosos *Trichoderma reesei* RP98 e *Mycothermus thermophilus*. Foram analisadas a capacidade destes fungos de produzir as enzimas endoglucanase, xilanase, celobiohidrolase, β -glucosidase e pectinase a partir de dois substratos diferentes, sabugo e palha de milho. Para cada enzima produzida, foi feita a caracterização de temperatura e pH ótimos. Os dois fungos apresentaram resultados promissores, com destaque para a produção de enzimas por *Trichoderma reesei* em sabugo de milho e para a produção de enzima por *Mycothermus thermophilus* em palha de milho. Entretanto, a produção de enzimas ainda pode ser melhorada e estudada em função de outros fatores. O projeto foi realizado no Laboratório de Microbiologia e Biologia Celular da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto sob orientação da Profa. Dra. Maria de Lourdes Teixeira de Moraes Polizeli e co-orientação da doutoranda Ana Sílvia de Almeida Scarcella.

PALAVRAS-CHAVE: *Trichoderma reesei* RP98, *Mycothermus thermophilus*, Coquetel Enzimático, Biomassa Lignocelulósica e Caracterização.

PRODUCTION OF A ENZYMATIC CONSORTIUM AIMING 2G ETHANOL OBTAINMENT FROM SUGARCANE BAGASSE

ABSTRACT: With the emerging search for alternative sources of energy, sugarcane bagasse, for being an agroindustrial residue rich in cellulose and hemicellulose, is pointed as a potential source for bioethanol production. However, second generation ethanol production at industrial levels is yet to become economically viable due to the high cost of the process. In this context, this work aimed to increase the efficiency of one of the steps in this process: the saccharification of sugarcane bagasse performed by enzymes originated from the filamentous fungi *Trichoderma reesei* RP98 and *Mycothermus thermophilus*. The capabilities of this fungi to produce the enzymes endoglucanase, xylanase, cellobiohydrolase, β -glucosidase and pectinase using two different kinds of substrate, corn cob and corn straw, were analyzed. For each enzyme produced, the optimal temperature and pH were characterized. Both fungi presented promising results, highlighting the enzyme production from *Trichoderma reesei* cultivated in corn cob and the enzyme production from *Mycothermus thermophilus* cultivated in corn straw. Nonetheless, it is possible to increase and study furthermore the enzyme production considering other factors.

KEYWORDS: *Trichoderma reesei* RP98, *Mycothermus thermophilus*, Enzymatic Cocktail, Lignocellulosic Biomass and Characterization.

1 | INTRODUÇÃO

O predomínio de combustíveis fósseis na matriz energética mundial desde o início da era moderna é tido como responsável pelo aumento na concentração de CO₂ na atmosfera e, conseqüentemente, pelas mudanças climáticas ao redor do globo. Neste cenário, fontes de energia renováveis são vistas como alternativa aos derivados do petróleo. O bioetanol brasileiro produzido a partir da cana-de-açúcar é uma das opções consideradas viáveis, embora ainda não tenha atingido seu potencial máximo. Os abundantes resíduos lignocelulósicos, como o bagaço da cana-de-açúcar, são possíveis fontes para a produção de bioetanol e sua conversão em biocombustíveis tornaria a produção mais eficiente (SOCCOL et al., 2010; GRAY; ZHAO; EMPTAGE, 2006; SHIELDS; BOOPATHY, 2011).

O cultivo de cana-de-açúcar e a produção açucareira acompanham o desenvolvimento da história do Brasil desde meados do século XVI, representando, por muito tempo, o produto mais importante para a economia brasileira. Com a transição para uma economia mais complexa e diversificada, e também em função de situações do mercado internacional, a cana-de-açúcar perdeu espaço para outros produtos (FURTADO, 2005). Em 1973, a crise do petróleo fez surgir um interesse no desenvolvimento e produção de fontes alternativas de energia ao redor do globo. O governo brasileiro, então, lançou em 1975 um programa chamado ProÁlcool, que visava aumentar a produção de etanol através de

diversos incentivos e subsídios. Nesta época o etanol era adicionado à gasolina em uma proporção de até 22%. Foi somente a partir de 1980 que foram desenvolvidos motores para automóveis que funcionavam inteiramente a base de etanol e por volta de 1991 já havia, aproximadamente, 3,5 milhões de automóveis movidos à álcool no Brasil, enquanto, na mesma época, havia por volta de 4,5 milhões de automóveis movidos à gasolina misturada com etanol (NITSCH, 1991). No cenário atual, o Brasil é o maior produtor de cana-de-açúcar no mundo e o segundo maior produtor de bioetanol, somente atrás dos Estados Unidos (SALES-FILHO et al., 2017), cultivando 620 milhões de toneladas de cana-de-açúcar na safra de 2018/2019 numa área de aproximadamente 10,2 milhões de hectares (2017), sendo 53.7% da produção vinda do Estado de São Paulo e 92.3% da Região Centro-Sul. No mesmo período a produção de etanol no Brasil atingiu 33 milhões de m³, sendo 93.5% deste total produzido da Região Centro-Sul (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, 2019; UNICA, 2019).

1.1 Variedade de cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar é uma gramínea do gênero *Saccharum* originária do sul e sudeste asiático que é utilizada e cultivada há milênios em regiões como a Índia e a China. As variedades de cana utilizadas comercialmente na atualidade são originárias de seleções, cruzamentos entre diversas espécies de *Saccharum* e de vários melhoramentos genéticos. Inicialmente foram cruzados indivíduos das espécies *S. officinarum*, já utilizada para cultivo, e a espécie selvagem *S. spontaneum*, com o objetivo de se conseguir uma planta que fosse resistente e com alta produção de açúcar. Essas variantes foram, em seguida, cruzadas entre si, o que levou a uma base genética relativamente pequena. Para resolver este problema, foram realizados diversos cruzamentos entre estas plantas com espécies selvagens como *S. edule*, *S. barberi*, *S. sinense*, *S. robustum*, *S. officinarum* e *S. spontaneum*, com as duas últimas ainda sendo mais dominantes, em especial a *S. officinarum*. As diversas variedades de cana-de-açúcar cultivadas atualmente são, portanto, chamadas de *Saccharum spp.* Estes cruzamentos e melhoramentos objetivavam maior produção de açúcar (OKUNO, 2016).

No contexto atual da produção de etanol surgiu a “cana energia”, oriunda de cruzamentos entre variedades comerciais e *S. spontaneum*. Esta nova variedade vai na contramão das outras variedades de cana cultivadas para fins alimentícios e tem potencial para dar um novo impulso à produção de biocombustíveis no Brasil. A cana energia produz uma quantidade maior de biomassa em detrimento da produção de açúcar. Produzindo cerca de 30% menos sacarose, ocorre um aumento de 100% na quantidade total de biomassa, resultando em um incremento significativo de eficiência na produção de etanol por hectare. Além disso, a cana energia é uma planta mais resistente do que as outras variedades, podendo ser cultivada em locais anteriormente inviáveis para a cultura (OKUNO, 2016; MATSUOKA et al., 2016).

1.2 Produção de etanol 1g

Para se produzir etanol a partir da cana-de-açúcar, a cana deve passar pela moagem. Após a trituração, será extraído um caldo que representa 70% do volume inicial. O caldo em seguida é fermentado por leveduras para obtenção de etanol. A partir deste processo é obtido o etanol de primeira geração, oriundo dos açúcares previamente disponíveis. Os outros 30% do volume inicial compõem um resíduo lignocelulósico denominado bagaço, que é, atualmente, queimado para gerar energia elétrica para as usinas de etanol (NOVACANA, 2018). Portanto, a produção de etanol a partir do bagaço desfruta, em princípio, da disponibilidade de biomassa para ser transformada (SCARCELLA, 2016).

1.3 O bagaço da cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar tem sua massa seca composta por, em média, 36% de celulose, 28% de hemicelulose, 20% de lignina e 13% de outros compostos orgânicos (TEW; COBILL, 2008). A celulose é um composto polimérico linear formado por unidades de D-glicopiranoses unidas por ligações glicosídicas β -1,4, sendo a celobiose a sua menor unidade repetitiva. Este polímero apresenta uma conformação cristalina, o que torna a celulose resistente à ação de microrganismos. A hemicelulose é também um composto polimérico, porém heterogêneo e formado por unidades de D-xilose, L-arabinose, D-manose, D-glicose, D-galactose e açúcares ácidos, contendo ramificações saindo da cadeia principal de xilose, que também se mantém unida por ligações glicosídicas β -1,4. É potencialmente possível sacarificar tanto a celulose quanto a hemicelulose, obtendo-se açúcares que podem ser fermentados em etanol em larga escala. A lignina, entretanto, consiste em uma cadeia irregular de compostos fenólicos: álcool cumárico, álcool coniferílico e álcool sinapílico. Este polímero confere à parede celular vegetal resistência a ataques microbianos, representando um empecilho à sacarificação e à fermentação (KUMAR; SINGH; SINGH, 2008; SCARCELLA, 2016).

A parede celular vegetal também é composta, em menores quantidades, pelo heteropolímero pectina. A cadeia principal da pectina é formada por unidades de ácido homogalacturônico, podendo apresentar ramificações de ramnose, arabinose, xilose e galactose. Além da pectina ser utilizada nas indústrias alimentícia e têxtil, este polímero pode ser hidrolisado e posteriormente fermentado, assim como a celulose e a hemicelulose (BRUMMELL, 2006; KUMAR; SINGH; SINGH, 2008).

1.4 Produção de etanol 2g

O etanol produzido a partir de resíduos lignocelulósicos é conhecido como etanol de segunda geração. Para obter etanol destes resíduos são necessárias as seguintes etapas: o pré-tratamento; a hidrólise; a fermentação dos açúcares derivados da sacarificação da biomassa; separação e tratamento do líquido. Entretanto, apesar dos métodos para

produção de etanol de segunda geração serem conhecidos, a tecnologia atual não permite que a produção de etanol a partir de resíduos lignocelulósicos seja economicamente viável (SOCCOL et al., 2010).

O pré-tratamento é fundamental para a conversão de biomassa em etanol. Seu objetivo é reduzir as interações entre os principais componentes da parede celular, liberando a celulose e a hemicelulose para serem hidrolisadas e fermentadas sem que substâncias inibidoras sejam formadas. Existem diversos tipos de pré-tratamentos como lavagem alcalina ou hidrólise ácida. Entretanto, o pré-tratamento mais utilizado para o bagaço da cana é a explosão com vapor, que consiste na exposição da biomassa ao vapor em alta pressão e alta temperatura, com isso o vapor adentra o material vegetal e se condensa, formando água líquida. Em seguida ocorre uma súbita descompressão, levando a água a rapidamente evaporar, desestruturando os componentes da parede celular e tornando-os mais acessíveis para a sacarificação (SOCCOL et al., 2010; TOMÉ, 2014).

A hidrólise, ou sacarificação, consiste na quebra dos polímeros de celulose e hemicelulose em pentoses e hexoses que podem passar por fermentação alcoólica. A hidrólise pode ser química, sendo realizada por ácidos ou bases, ou enzimática, efetuada por diversas enzimas oriundas de fungos filamentosos que atuam de forma sinérgica. A hidrólise enzimática é considerada mais limpa, pois o surgimento de compostos inibidores do crescimento de leveduras é menor e, portanto, mais adequada à produção (SCARCELLA, 2016).

A fermentação alcoólica é o processo a partir do qual o etanol é obtido, sendo catalisada por leveduras. A fermentação pode ocorrer de duas diferentes formas: separada da hidrólise ou simultânea à hidrólise. A fermentação separada leva a um acúmulo de glicose, inibindo a posterior atividade enzimática, o que não ocorre na hidrólise e fermentação simultâneas, pois a glicose é prontamente convertida em etanol. Entretanto, na fermentação simultânea à hidrólise não é possível que as condições ótimas de temperatura sejam atingidas para a atividade enzimática (~50 °C) e para a fermentação (~30 °C). Portanto não há conclusões sobre qual método é mais eficiente (SOCCOL et al., 2010; SCARCELLA, 2016).

1.5 As enzimas fúngicas

Para que a produção de etanol de segunda geração torne-se economicamente viável e comece a ser realizada em escalas industriais, é necessário que um coquetel enzimático capaz de hidrolisar polímeros de celulose e hemicelulose de forma eficiente seja desenvolvido. Isto representa um dos grandes desafios frente à produção de etanol de segunda geração. Certos fungos filamentosos são capazes de produzir celulases e hemicelulases e por isso há uma grande quantidade de estudos relacionados à produção de enzimas a partir de fungos como os do gênero *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Mycothermus*, entre outros (SCARCELLA, 2016; SHIELDS, BOOPATHY, 2010).

As enzimas catalizadoras da hidrólise da celulose, conhecidas como celulases, são divididas em três principais tipos: as β -glucosidases (EC 3.2.1.21), as endoglucanases (EC 3.2.1.4) e as celobiohidrolases (EC 3.2.1.176, CBHI; EC 3.2.1.91, CBHII). Cada uma dessas enzimas atua sobre uma área específica das moléculas de celulose. As endoglucanases, como o nome indica, clivam ligações glicosídicas β -1,4 aleatórias presentes no interior das cadeias de celulose. As celobiohidrolases, também conhecidas como exoglucanases, rompem as ligações glicosídicas β -1,4 presentes nas extremidades das cadeias de celulose, sendo que a CBHI atua em extremidades não redutoras, enquanto a CBHII atua em extremidades redutoras. A ação desta enzima libera celobioses que, por sua vez, sofrem a ação de β -glucosidases, liberando glicose. As β -glucosidases também são capazes de atuar sobre oligossacarídeos compostos por até seis monômeros de glicose (SCARCELLA, 2016; KUMAR; SINGH; SINGH, 2008).

Sendo a hemicelulose composta por uma cadeia principal de xilose contendo diversas ramificações com diferentes açúcares, é necessária a ação sinérgica de várias enzimas que clivam as diversas ligações presentes neste heteropolímero. A enzima endo- β -1,4-xilanase (EC 3.2.1.8) realiza a quebra de ligações glicosídicas internas à cadeia principal, reduzindo o tamanho destes polímeros. A β -xilosidase (EC 3.2.1.37) cliva xilobiose, que, de forma análoga à celobiose, é a menor unidade repetitiva da xilana, liberando a pentose xilose. Outras enzimas como α -arabinofuranosidase (EC 3.2.1.55) e α -glucuronidase (EC 3.2.1.139) também atuam clivando as ligações entre as ramificações de L-arabinose e ácido glucurônico, respectivamente (SCARCELLA, 2016; KUMAR; SINGH; SINGH, 2008).

A hidrólise da pectina depende da ação sinérgica de enzimas como a pectinase, polimetil galacturonase, endo-poligalacturonase, exo-poligalacturonase e exo-poligalacturanosidase. Essas enzimas são responsáveis pela quebra da cadeia principal da pectina. Já as ramificações são hidrolisadas pelas enzimas α -L-ramnosidases e α -L-arabinofuranosidases (KUMAR; SINGH; SINGH, 2008).

Neste trabalho a produção de enzimas foi feita em meios de cultivo suplementados com outro resíduo agroindustrial relevante, o sabugo e a palha de milho. A produção de milho no Brasil vem crescendo aproximadamente 3% ao ano nas últimas décadas (EMBRAPA, 2015), com projeção de produção total de 95 milhões de toneladas no ano de 2019 (PORTAL DO GOVERNO DO BRASIL, 2019). O sabugo e a palha de milho são resíduos lignocelulósicos que apresentam grandes quantidades de celulose e hemicelulose, representando aproximadamente 35% e 39% de sua composição, respectivamente (LIU et al., 2010; IOANNIDOU et al., 2009). A composição e a disponibilidade destes resíduos seguem seu potencial para uso na produção de enzimas relacionadas à produção de etanol 2G.

2 | OBJETIVOS

2.1 Objetivos gerais

Elaboração de um coquetel enzimático capaz de hidrolisar resíduos lignocelulósicos desenvolvido a partir de fontes de indução de baixo custo visando à produção de etanol.

2.2 Objetivos específicos

- Produção de celulases, xilanases e pectinases pelos fungos *Trichoderma reesei* RP98 e *Mycothermus thermophilus*;
- Verificar a produção enzimática pelos fungos em função do tempo (dias) de cultivo;
- Caracterização bioquímica das enzimas;

3 | MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Manutenção das cepas

Para realizar a manutenção das cepas de *Trichoderma reesei* RP98 e *Mycothermus thermophilus* foram feitos repiques periódicos em tubos de ensaio contendo 5 mL de meio batata-dextrose-ágar (BDA) e 5 mL de meio composto por 4 g de farinha de aveia, 2 g de ágar e 1 g de glicose para 100 mL de água destilada, ambos esterilizados. Os tubos contendo *Trichoderma reesei* RP98 foram mantidos em estufas a 30° C e os tubos contendo *Mycothermus thermophilus* a 40°C durante sete dias. Passados estes dias, os tubos contendo *T. reesei* foram guardados na geladeira e os tubos contendo *M. thermophilus* em estufa a 25° C.

3.2 Produção enzimática

A produção enzimática foi realizada a partir de uma solução de 1 mL contendo 10^7 esporos de *T. reesei* ou de *M. thermophilus*, sendo a contagem realizada em câmara de Neubauer. Este volume da solução foi adicionado a um Erlenmeyer de 250 mL contendo 50 mL de meio mínimo (BARRATT et al., 1965) e suplementado com 1% de palha ou sabugo de milho.

Os frascos contendo *T. reesei* foram incubados a 30 °C e os frascos contendo *M. thermophilus* foram incubados a 40 °C, 120 rpm, durante 7 dias. Amostras de 1 mL foram retiradas a cada 24 horas para que a dosagem enzimática fosse realizada.

3.3 Dosagem enzimática

Foram dosadas as atividades de endoglucanases, xilanases e pectinase através da formação e detecção de açúcares redutores a partir de seus substratos pelo método do

ácido 3,5-dinitrosalicílico, DNS (MILLER, 1959).

Para a dosagem de endoglucanase, foram adicionados às microplacas 25 µL do substrato carboximetilcelulose 1% (CMC), 15 µL de tampão acetato de sódio 50 mM, pH 5,0 e 10 µL do extrato enzimático. A reação ocorreu no termociclador a 50 °C por 20 minutos.

Para a dosagem de xilanase, foram adicionados às microplacas 25 µL do substrato Xilana beechwood 1%, 15 µL de tampão acetato de sódio 50 mM, pH 5,0 e 10 µL de extrato enzimático diluído em dez vezes no mesmo tampão. A reação ocorreu no termociclador a 50 °C por 5 minutos.

Para a dosagem de pectinase, foram adicionados às microplacas 50 µL de tampão acetato de sódio 50mM, pH 5,0 contendo 1% de ácido poligalacturônico e 50 µL do extrato enzimático. A reação ocorreu no termociclador a 50 °C por 10 minutos. Após o término do tempo de reação, foram adicionados 50 µL de DNS (ácido dinitrosalicílico), que indica presença de açúcares redutores, às microplacas que estavam contendo CMC e Xilana, que depois voltaram para o termociclador por 5 minutos a 98 °C.

O conteúdo das microplacas que continham ácido poligalacturônico foi transferido para tubos de ensaio contendo 100 µL de DNS, que foram levados a banho-maria por 5 minutos à 98 °C. Após terminados os 5 minutos de fervura no banho-maria, foi adicionado 1 mL de água a cada tubo. O conteúdo dos tubos foi centrifugado por 1,5 minutos a 10000 g. Em seguida foram retirados 100 µL do sobrenadante para a leitura ser realizada

Para o branco o extrato enzimático foi adicionado somente após a adição de DNS e no mesmo mesmo volume adicionado às outras reações.

A absorbância foi determinada em leitor de microplacas para um comprimento de onda de 540 nm. Para o cálculo da atividade enzimática foi utilizada uma curva padrão de glicose (1 mg/mL), xilose (1 mg/mL) e ácido galacturônico (1 mg/mL). Uma unidade (U) de atividade enzimática fica definida como a quantidade de enzima necessária para liberar 1 µmol de açúcar redutor por minuto, nas condições de ensaio.

As determinação das atividades de celobiohidrolases (CBH) e β-glucosidases foram feitas a partir da clivagem de substratos sintéticos, p-nitrofenilcelobiosídeo (pNPC) e p-nitrofenilglicopiranosídeo (pNPG), respectivamente. Para tanto, foram adicionados às microplacas 25 µL de substrato 2 mM, 15 µL de tampão de acetato de sódio 50 mM, pH 5,0 e 10 µL do extrato enzimático. A reação ocorreu a 50 °C por 10 minutos no termociclador. Em seguida foram adicionados 50 µL de carbonato de cálcio 0,2 M. O branco foi realizado com a incubação de substrato e tampão, sendo a enzima adicionada somente após a adição de carbonato de sódio.

A absorbância foi determinada em leitor de microplacas a 410 nm. Foi utilizado para cálculo uma curva padrão com p-nitrofenol. Uma unidade de atividade enzimática foi definida como a quantidade de enzima necessária para liberar 1 µmol de produto por minuto, nas condições de ensaio.

3.4 Caracterização bioquímica

Foi realizada a caracterização de temperatura e pH ótimos na ação enzimática dos extratos de *T. reesei* e *M. thermophilus* obtidos após 5 dias de cultivo e dos extratos retirados nos dias em que maior atividade enzimática foi calculada.

Para isso, a dosagem enzimática foi realizada conforme descrito no item 3.3 porém as temperaturas de reação variaram entre 30 e 70 °C, com intervalos de 5 °C, e o pH variou entre 3 e 8 com intervalos de 0,5. Nessa etapa foram utilizadas soluções de tampão McIlvaine (VILLELA et al., 1973).

3.5 Dosagem de proteínas

A quantificação de proteínas foi feita utilizando o reagente de Bradford (BioRad) conforme descrito: 160 µL de extrato enzimático de meio de cultivo adicionados a 40 µL do reagente. A reação ocorreu em temperatura ambiente durante cinco minutos e a absorbância foi lida em 595 nm.

4 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Produção de enzimas em função do tempo de cultivo

Foram determinados em quais dias as atividades de cada enzima atingiam seu valor máximo dentro de um período de 7 dias. As atividades enzimáticas dos extratos obtidos de *T. reesei* podem ser observadas juntamente com as atividades específicas na figura 1. Nos cultivos com *Trichoderma reesei*, foram constatadas maiores atividades de todas as enzimas após 6 dias de cultivo. Algumas exceções apresentaram atividade equivalente após 7 dias de cultivo, como a xilanase cultivada em palha de milho e a β-glucosidase produzida em sabugo de milho. A celobiohidrolase (CBH), entretanto, apresentou maior atividade após 7 dias de cultivo, tanto para sabugo como para a palha de milho.

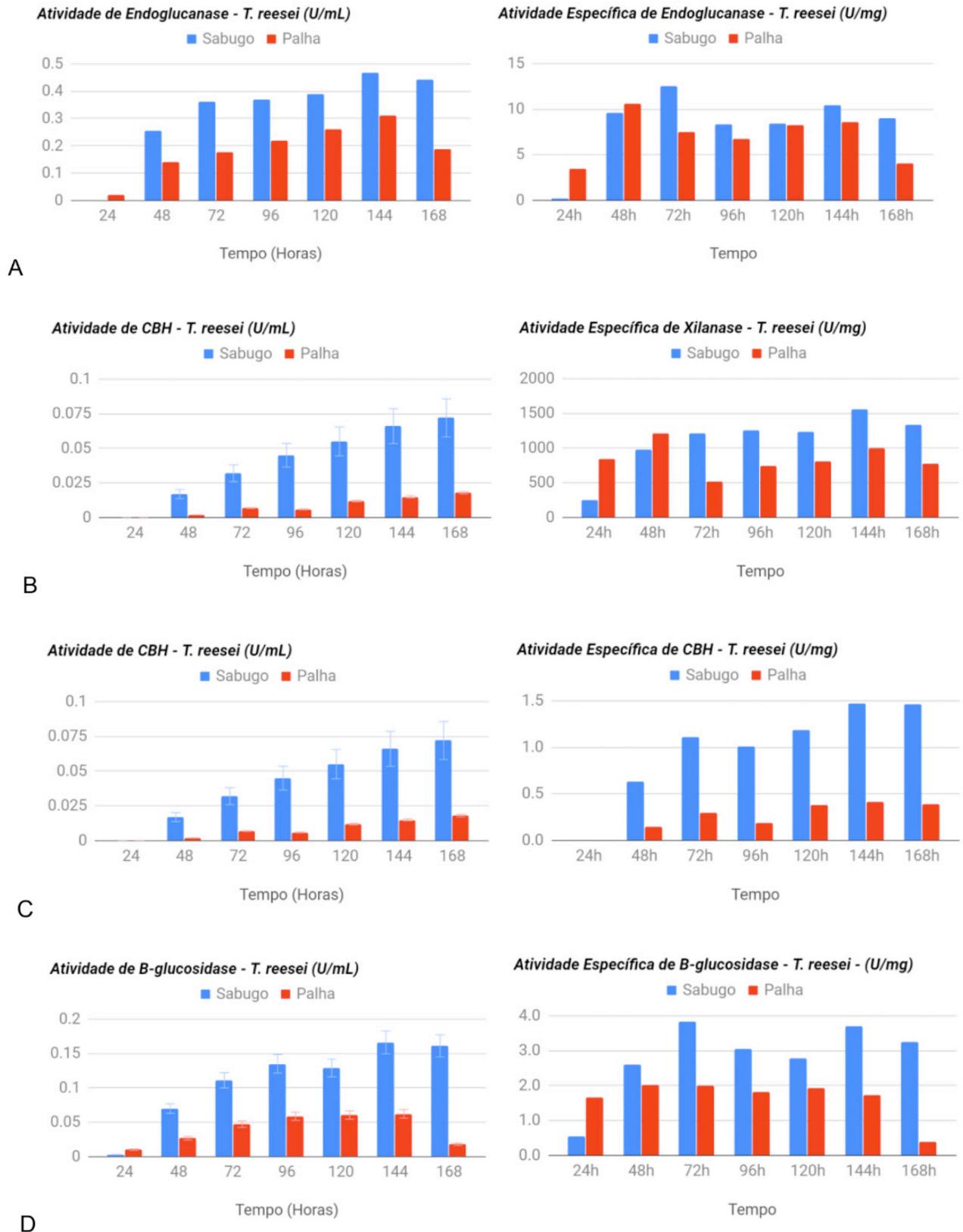


Figura 1. Produção enzimática do fungo *Trichoderma reesei* RP98: (A) endoglucanase; (B) xilanase; (C) celobiohidrolase e (D) β -glucosidase.

Quando comparadas as atividades verificadas entre os cultivos com sabugo e palha de milho observa-se, claramente, uma maior atividade com o implemento de sabugo de milho para todas as enzimas analisadas: para a endoglucanase (6 dias), 0,47 U/mL com sabugo e 0,31 U/mL com palha (figura 1.A); para a xilanase (6 dias), 70,1 U/mL com

sabugo e 36 U/mL com palha (figura 1.B); para a celobiohidrolase (7 dias), 0.072 U/mL com sabugo e 0,018 U/mL com palha (figura 1.C); e para a β -glucosidase (6 dias), 0,166 com sabugo e 0,062 com palha (figura 1.D).

Também foi observada maior atividade específica para os extratos de cultivos sabugo de milho. Para a endoglucanase foi observado um valor máxima de 12.5 U/mg após 3 dias de cultivo com sabugo e 10.6 U/mg após dois dias de cultivo com palha (figura 1.A). Para a xilanase, o valor máximo atingido foi de 1560 U/mg após 6 dias de cultivo com sabugo e 1212 U/mg após dois dias de cultivo com palha (figura 1.B). Os valores observados para a celobiohidrolase atingiram máximos de 1.47 U/ mg após 6 dias de cultivo com sabugo e 0.42 U/mg após 6 dias com palha (figura 1.C). Para a endoglucanase, os valores máximos verificados ocorreram após 3 dias de cultivo, tanto para o sabugo com para a palha, com 3.84 U/mg e 2 U/mg, respectivamente (figura 1.D).

O mesmo foi feito para os cultivos com *Mycothermus thermophilus*. As atividades enzimáticas dos extratos obtidos de *M. thermophilus* podem ser observadas juntamente com as atividades específicas na figura 2. Foi verificada maior atividade enzimática para as quatro enzimas após 7 dias de cultivo, embora atividades equivalentes foram constatadas para a endoglucanase obtida após 6 dias com sabugo de milho e para a xilanase obtida após 6 dias com palha de milho.

Quando comparados as atividades enzimáticas averiguadas entre os cultivos de *M. thermophilus* com sabugo e palha de milho, observou-se o oposto do que aconteceu com *T. reesei*. Os extratos obtidos dos cultivos com palha de milho apresentaram maior atividade enzimática: para a endoglucanase (7 dias), 0,29 U/mL com palha e 0,17 com sabugo (figura 2.A); para a CBH (7 dias), 0,17 U/mL com palha e 0,08 U/mL com sabugo (figura 2.C); e para a β -glucosidase (7 dias), 0,39 U/mL com palha e 0,26 U/mL com sabugo (figura 2.D). A exceção foi atividade verificada para a xilanase (7 dias), 19 U/mL com palha e 26,4 U/mL com sabugo (figura 2.B).

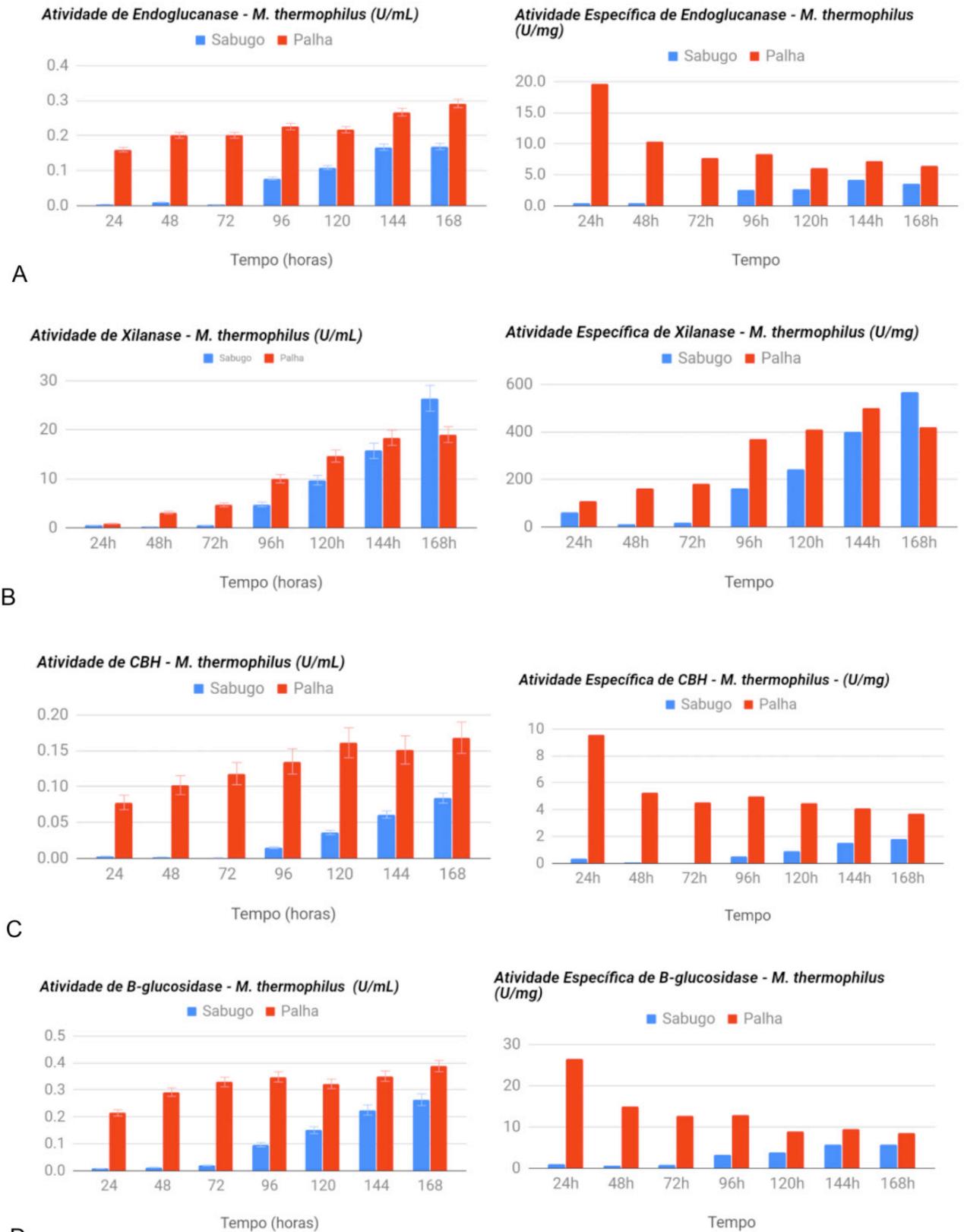


Figura 2. Produção enzimática do fungo *Mycothermus thermophilus*: (A) endoglucanase; (B) xilanase; (C) celobiohidrolase e (D) β-glucosidase.

Foi observada também uma alta atividade enzimática de endoglucanase, CBH e β-glucosidase nos cultivos com palha de milho logo após 24 horas de cultivo, representando 54,8%, 46,4% e 55,3% da atividade observada após 7 dias, respectivamente. Isso resultou em uma atividade específica dessas enzimas muito elevada nos primeiros dias de cultivo

com palha. O mesmo não foi observado nem na atividade da xilanase e nem nos cultivos com sabugo de milho.

Para os extratos de cultivos com palha de milho, foi observada maior atividade específica no primeiro dia e, posteriormente, um declínio (figura 2). O mesmo não ocorreu com os extratos de cultivos com sabugo de milho, nos quais os maiores valores foram obtidos nos últimos dias de cultivo. A xilanase entretanto apresentou comportamento diferente, com maior atividade específica nos últimos dias de cultivo tanto para os extratos de cultivo com palha como sabugo de milho. Para a endoglucanase foi observado um valor máximo de 19.7 U/mg após um dia de cultivo com palha e 4.3 U/mg após 7 dias de cultivo com sabugo. Para a xilanase o valor máximo atingido foi de 499 U/mg após 6 dias de cultivo com palha e 568 U/mg após 7 dias de cultivo com sabugo. Para a celobiohidrolase o valor máximo de atividade específica calculado foi de 9.6 U/mg após um dia de cultivo com palha de milho e 1.8 U/mg após 7 dias de cultivo com sabugo de milho. Para a β -glucosidase o valor máximo foi de 26.4 U/mg após um dia de cultivo com palha de milho e 5.8 U/mg após 6 dias de cultivo com sabugo de milho.

Quando comparadas as produções de enzimas entre *T. reesei* e *M. thermophilus*, verifica-se que *T. reesei* apontou maior produção de endoglucanase e de xilanase enquanto *M. thermophilus* apresentou maior produção de celobiohidrolase e de β -glucosidase. Na tabela 1 são comparados os valores máximos de atividade enzimática de cada fungo filamentosos para cada enzima.

Os dados para a endoglucanase se mostram semelhantes aos publicados por METREVELI et al. (2017), porém baixos quando comparados com os resultados obtidos em SHARMA et al. (2017), tanto para os cultivos com *Trichoderma reesei* como para os cultivos com *Mycothermus thermophilus*. A xilanase, entretanto, apresentou valores superiores aos publicados por BHALLAS, BISCHOFF e SANI (2015) e KSHIRSAGAR et al. (2015), especialmente para o cultivo de *Trichoderma reesei* com sabugo de milho. Os resultados para a celobiohidrolase se mostraram um pouco abaixo dos obtidos com *Aspergillus niger* por XUE et al. (2017), o mesmo aconteceu para a β -glucosidase, quando comparada com os dados de SHARMA et al. (2017).

Também foi tentado determinar os dias em que a atividade de pectinase era máxima para cada um dos cultivos feitos. Entretanto não foi verificada atividade enzimática em nenhum dos cultivos, tanto dos extratos obtidos a partir de *T. reesei* como de *M. thermophilus*. Pode-se observar as atividades enzimáticas registradas na tabela 2.

	Endoglucanase (U/mL)	Xilanase (U/mL)	Celobiohidrolase (U/mL)	β -glucosidase (U/mL)
<i>T. reesei</i> - sabugo	0,47 \pm 0,05	70,10 \pm 7,70	0,07 \pm 0,01	0,17 \pm 0,02
<i>T. reesei</i> - palha	0,31 \pm 0,40	36,00 \pm 1,60	0,02 \pm 0,00	0,06 \pm 0,02
<i>M. thermophilus</i> - sabugo	0,17 \pm 0,01	26,4 \pm 2,82	0,08 \pm 0,01	0,26 \pm 0,02
<i>M. thermophilus</i> - palha	0,29 \pm 0,01	19,00 \pm 1,61	0,17 \pm 0,02	0,39 \pm 0,02

Tabela 1: valores máximos atividade enzimática de *T. reesei* e *M. thermophilus*

	24h	48h	72h	96h	120h	144h	168h
<i>T. reesei</i> - sabugo	0,061 \pm 0,080	0,001 \pm 0,001	0,007 \pm 0,013	0,033 \pm 0,660	0,056 \pm 0,064	0,005 \pm 0,009	0,005 \pm 0,009
<i>T. reesei</i> - palha	0,007 \pm 0,014	0,083 \pm 0,056	0,078 \pm 0,092	0,067 \pm 0,080	0,076 \pm 0,069	0,037 \pm 0,027	0,068 \pm 0,063
<i>M. thermophilus</i> - sabugo	0,016 \pm 0,031	0,002 \pm 0,003	0,025 \pm 0,023	0,029 \pm 0,056	0,027 \pm 0,051	0,022 \pm 0,039	0,038 \pm 0,057
<i>M. thermophilus</i> - palha	0,014 \pm 0,026	0,013 \pm 0,018	0,014 \pm 0,022	0,014 \pm 0,028	0,008 \pm 0,011	0,013 \pm 0,021	0,026 \pm 0,033

Tabela 2: atividade enzimática de pectinase (U/mL) com desvio padrão em função do tempo de cultivo

Os altos valores dos coeficiente de variação, razão entre desvio padrão e média, frequentemente acima de 1, indicam que não houve atividade enzimática de pectinase considerável. Contudo, isso não indica que *T. reesei* e *M. thermophilus* não sejam capazes de produzir pectinase. A ausência de pectina nos substratos sabugo e palha de milho (LIU et al., 2010) pode ser um dos motivos para que a enzima não fosse produzida. Produção de pectinase foi verificada por *T. reesei* em substratos diferentes (OLSSON et al., 2003).

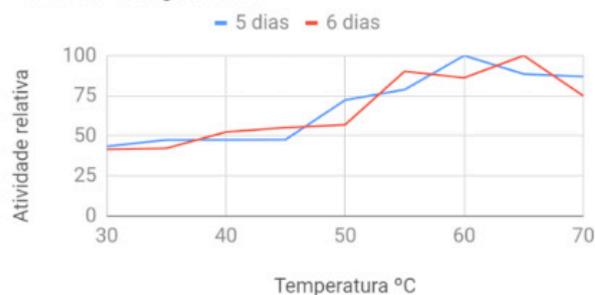
4.2 Caracterização bioquímica das enzimas

Com exceção da pectinase, que não apresentou atividade enzimática significativa, foi feita a caracterização bioquímica das enzimas analisadas, determinando temperatura e pH ótimos.

4.2.1 Temperatura ótima

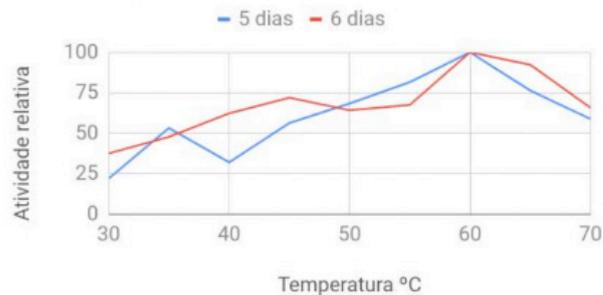
Todas as enzimas tiveram a temperatura ótima determinada, tanto do fungo *T. reesei* (figura 3 e 4), quanto do *M. thermophilus* (figura 5 e 6). Para a determinação da temperatura ótima de ensaio enzimático, as enzimas foram incubadas com seus substratos específicos, em diferentes temperaturas que variaram de 30 °C a 75 °C, com variação de 5°C.

Atividade relativa de endoglucanase em função da temperatura - *T. reesei* - Sabugo de milho



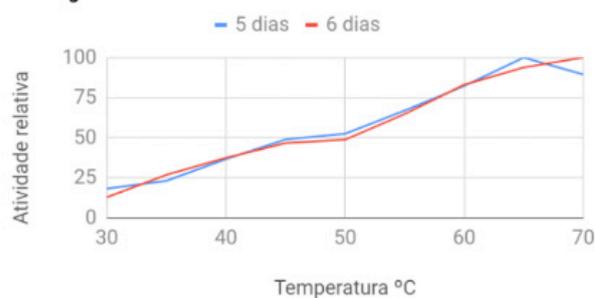
A

Atividade relativa de xilanase em função da temperatura - *T. reesei* - Sabugo de milho



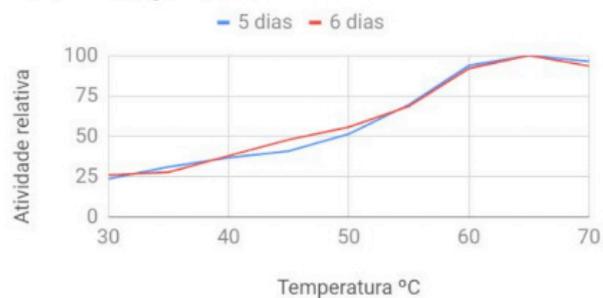
B

Atividade relativa de CBH em função da temperatura - *T. reesei* - Sabugo de milho



C

Atividade relativa de B-glucosidase em função da temperatura - *T. reesei* - Sabugo de milho

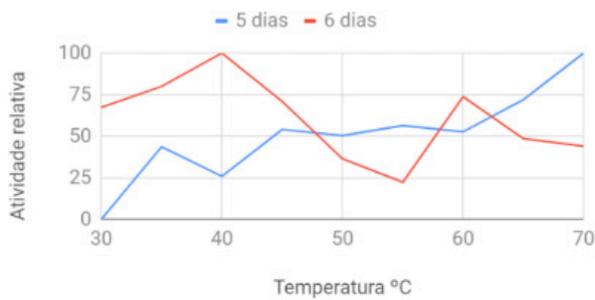


D

Figura 3. Atividade relativa em função da temperatura das enzimas endoglucanase (A), xilanase (B), CBH (C) e β -glucosidase (D) de *Trichoderma reesei* RP98 em meio suplementado com sabugo de milho.

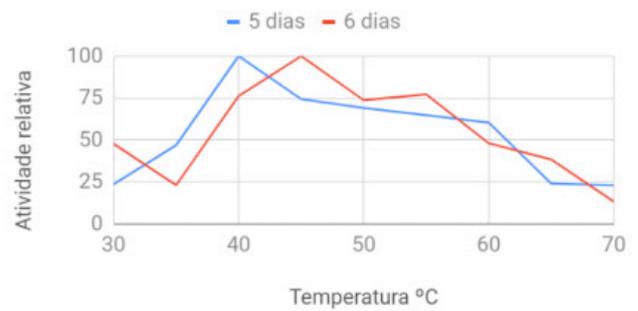
A endoglucanase de *T. reesei* obtida do sabugo de milho apresentou elevada atividade enzimática de 55 a 65°C, sendo a melhor temperatura 60°C para o extrato de 5 dias de cultivo e 65 °C para o de 6 dias (figura 3A). As outras duas celulases estudadas também apresentaram elevada nesta faixa de temperatura, a celobiohidrolase apresentou atividade máxima a 65 °C para o extrato de 5 dias e 70 °C para o extrato de 6 dias (figura 3C), e a B-glucosidase apresentou atividade máxima a 65 °C para os dois extratos (figuras 3D). SILVA et al. (2013), YUAN et al. (2015) e PELLEGRINI et al. (2015) estudaram celulases com máxima atividade na faixa de 50 a 65°C, dados que corroboram com os resultados obtidos. As temperaturas ótimas para a xilanase, curiosamente, também se encontram nessa faixa de temperatura, 60 °C tanto para o extrato de 5 dias como para o de 6 dias (figuras 3B).

Atividade relativa de endoglucanase em função da temperatura - *T. reesei* - Palha de milho



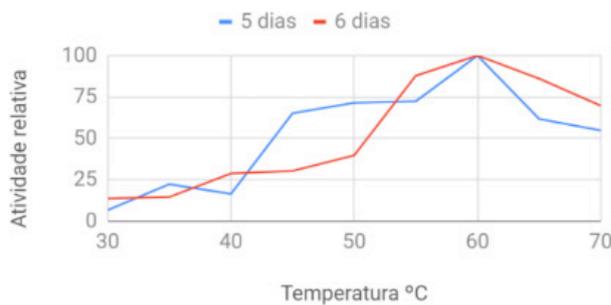
A

Atividade relativa de xilanase em função da temperatura - *T. reesei* - Palha de milho



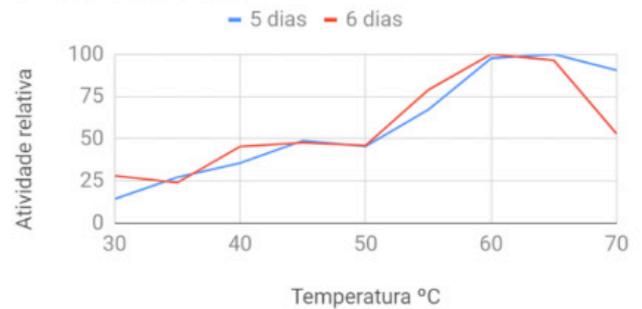
B

Atividade relativa de CBH em função da temperatura - *T. reesei* - Palha de milho



C

Atividade relativa de β -glucosidase em função da temperatura - *T. reesei* - Palha de milho



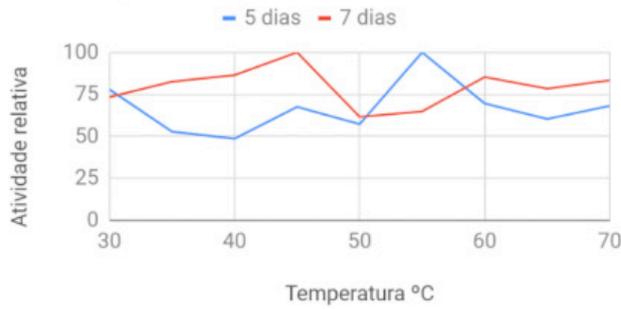
D

Figura 4. Atividade relativa em função da temperatura das enzimas endoglucanase (A), xilanase (B), CBH (C) e β -glucosidase (D) de *Trichoderma reesei* RP98 em meio suplementado com sabugo de milho.

Para o cultivo em meio suplementado com palha de milho, também foi observada elevada atividade enzimática para temperaturas entre 60 °C e 70 °C (figura 4). A celobiohidrolase apresentou atividade máxima a 60 °C (figura 4C) para os dois extratos e a β -glucosidase apresentou atividade máxima a 60 °C e 65 °C para os extratos de 6 e 5 dias de cultivo, respectivamente (figura 4D). Entretanto, houve divergência em alguns pontos quando comparados os cultivos com sabugo e palha de milho. Foi observada atividade máxima de xilanase a 40 °C para o extrato de 5 dias e 45 °C para o extrato de 6 dias (figura 4B). Também foi verificada uma atividade máxima de endoglucanase a 40 °C para o extrato de 6 dias, enquanto a temperatura ótima da endocelulase para o extrato de 5 dias foi de 70 °C (figura 4A).

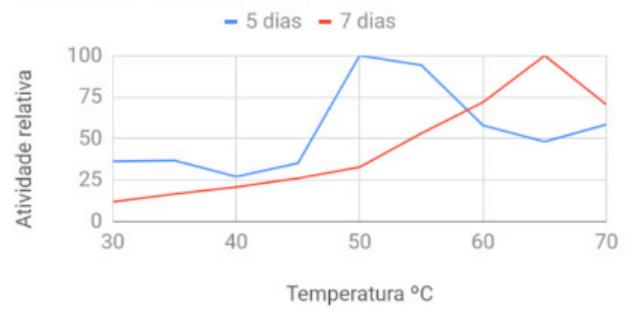
Para as enzimas de *Mycothermus thermophilus* também foi observada uma predominância de temperaturas ótimas elevadas (figuras 5 e 6), embora estas tenham apresentado um padrão mais heterogêneo quando comparadas com as temperaturas ótimas das enzimas de *Trichoderma reesei*.

Atividade relativa de endoglucanase em função da temperatura - *M. thermophilus* - Sabugo de milho



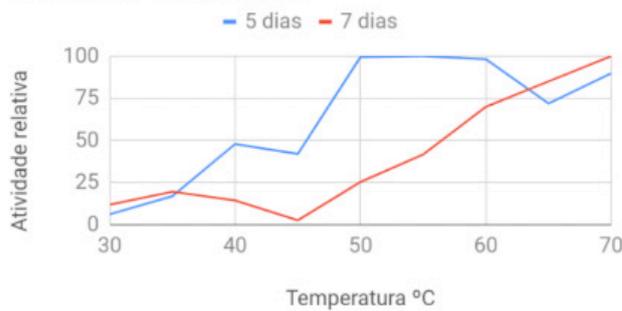
A

Atividade relativa de xilanase em função da temperatura - *M. thermophilus* - Sabugo de milho



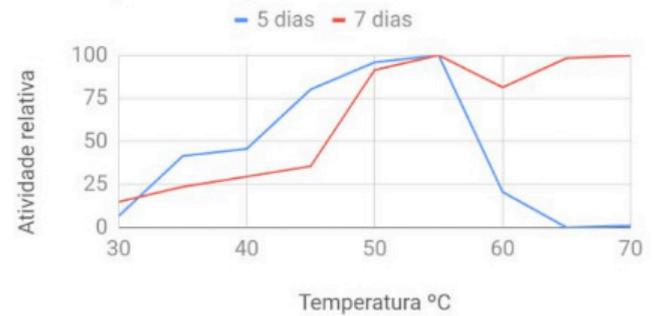
B

Atividade relativa de CBH em função da temperatura - *M. thermophilus* - Sabugo de milho



C

Atividade relativa de β -glucosidase em função da temperatura - *M. thermophilus* - Sabugo de milho

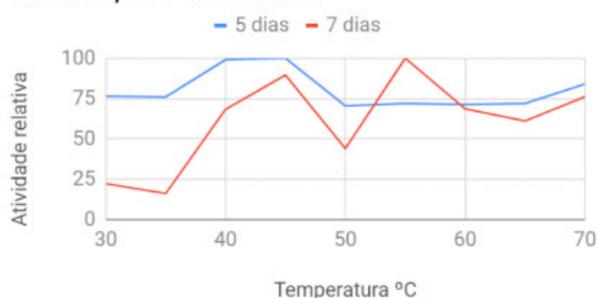


D

Figura 5. Atividade relativa em função da temperatura das enzimas endoglucanase (A), xilanase (B), CBH (C) e β -glucosidase (D) de *Mycothermus thermophilus* em meio suplementado com sabugo de milho.

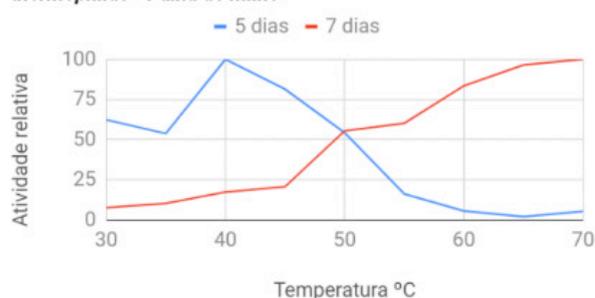
Nos cultivos com meio suplementado com sabugo de milho, as temperaturas ótimas verificadas para a endocelulase foram de 55 °C para o extrato de 5 dias e 45 °C para o extrato de 7 dias, com atividade relativa acima de 78% para o intervalo entre 60 °C e 70 °C (Figura 5A). Para a xilanase, foram observadas temperaturas ótimas de 50 °C para o extrato de 5 dias e 65 °C para o de 7 dias (figura 5B). Foram constatadas temperaturas ótimas para a celobiohidrolase de 55 °C e 70 °C para os extratos de 5 e 7 dias de cultivo, respectivamente, também foram verificadas no extrato de 5 dias atividades relativas de 99% e 98% em temperaturas de 50 °C e 60 °C, respectivamente (figura 5C). A β -glucosidase apresentou atividade máxima a 55 °C para os dois extratos, embora possa ser vista uma grande diferença entre os extratos na atividade relativa em temperaturas acima de 60 °C, com elevada atividade para o extrato de 7 dias e atividade praticamente nula a partir de 65 °C para o extrato de 5 dias (figura 5D).

Atividade relativa de endoglucanase em função da temperatura - *M. thermophilus* - Palha de milho



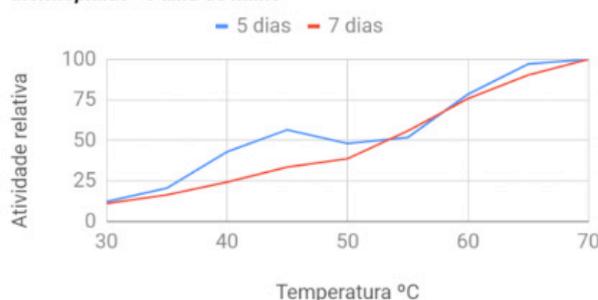
A

Atividade relativa de xilanase em função da temperatura - *M. thermophilus* - Palha de milho



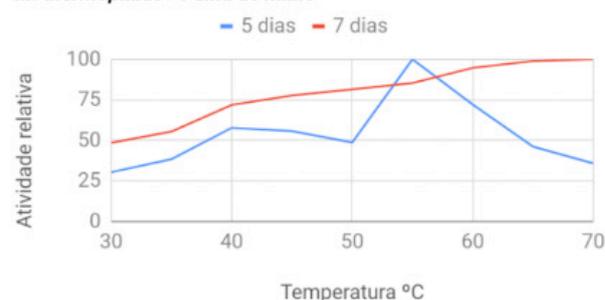
B

Atividade relativa de CBH em função da temperatura - *M. thermophilus* - Palha de milho



C

Atividade relativa de B-glucosidase em função da temperatura - *M. thermophilus* - Palha de milho



D

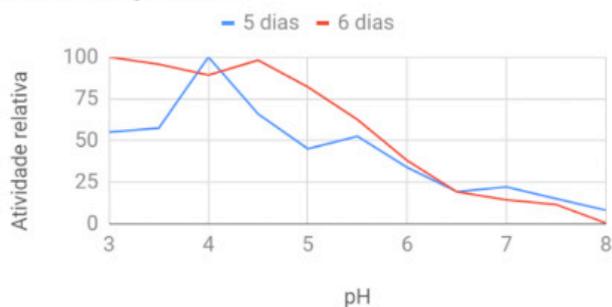
Figura 6. Atividade relativa em função da temperatura das enzimas endoglucanase (A), xilanase (B), CBH (C) e β -glucosidase (D) de *Mycothermus thermophilus* em meio suplementado com palha de milho.

A endoglucanase obtida do cultivo de *Mycothermus thermophilus* com palha de milho apresentou temperaturas ótimas de 45 °C e 55 °C para os extratos de 5 e 7 dias, respectivamente (figura 6A), comportamento oposto ao resultado obtido com sabugo de milho. O extrato de 5 dias também apresentou atividade relativa elevada para todas as outras temperaturas analisadas, atingindo 71% no ponto mais baixo a 60 °C. As outras celulasas apresentaram atividade elevada a temperaturas elevadas, com atividades máximas de celobiohidrolase a 70 °C para os dois extratos (figura 6C) e com atividades máximas de B-glucosidase a 55 °C e 70 °C para os extratos de 5 e 7 dias, respectivamente (figura 6D). As curvas descritas para as atividades relativas da xilanase apresentam comportamentos opostos, com o extrato de 5 dias apresentando atividade elevada até 50 °C, com atividade máxima a 40 °C, e o extrato de 7 dias apresentando atividade elevada acima de 50 °C, com atividade máxima a 70 °C.

4.2.2 pH ótimo

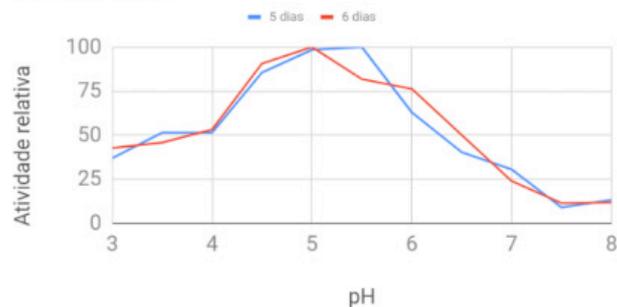
Todas as enzimas também tiveram o pH ótimo determinado, tanto do fungo *T. reesei* (figura 7 e 8), quanto do *M. thermophilus* (figura 9 e 10). Para a determinação do pH ótimo de ensaio enzimático, as enzimas foram incubadas com seus substratos específicos, em diferentes pH que variaram de 3 a 8, com variação de 0.5

Atividade relativa de endoglucanase em função do pH - *T. reesei* - Sabugo de milho



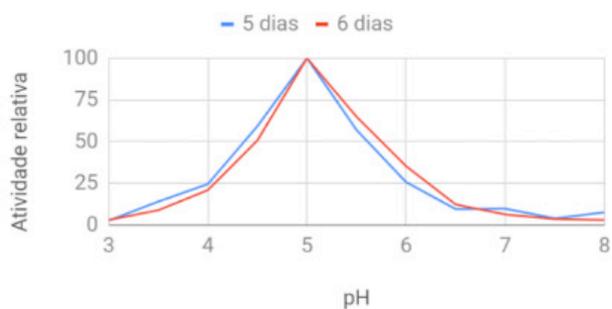
A

Atividade relativa de xilanase em função do pH - *T. reesei* - Sabugo de milho



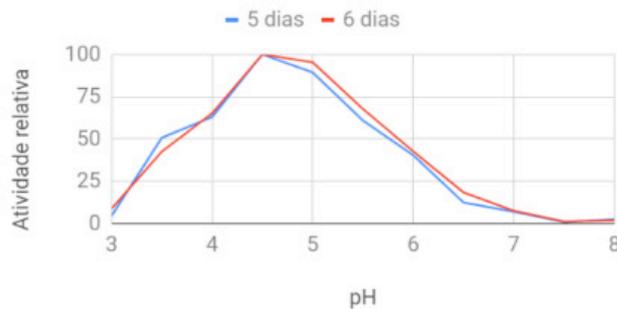
B

Atividade relativa de CBH em função do pH - *T. reesei* - Sabugo de milho



C

Atividade relativa de B-glucosidase em função do pH - *T. reesei* - Sabugo de milho

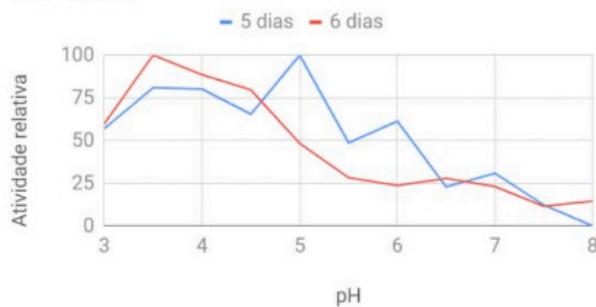


D

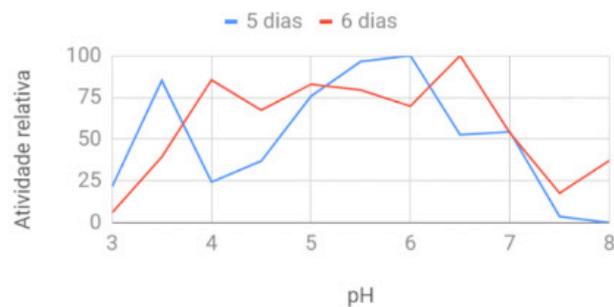
Figura 7. Atividade relativa em função do pH das enzimas endoglucanase (A), xilanase (B), CBH (C) e B-glucosidase (D) de *Trichoderma reesei* RP98 em meio suplementado com sabugo de milho.

Para os extratos de *Trichoderma reesei* RP98 obtidos a partir do cultivo com sabugo de milho foi, de forma geral, observada uma homogeneidade nas curvas de atividade enzimática relativa em função do pH quando comparados os extratos de 5 e 6 dias de cultivo, com atividades ótimas em pH predominantemente baixo. A endoglucanase apresentou picos de atividade em pH 4 e pH 4,5 para os extratos de 5 e 6 dias de cultivo, respectivamente (figura 7A). A xilanase apresentou picos em pH 5 e 5,5 para os extratos de 6 e 5 dias, respectivamente, com elevada atividade para o extrato de 5 dias em pH 5 (figura 7B). A celobiohidrolase e a β -glucosidase apresentaram atividades máximas em pH 4,5 e 5, respectivamente, tanto para o extrato de 5 e como para o de 6 dias nos dois casos (figura 7C e 7D).

Atividade relativa de endoglucanase em função do pH - *T. reesei* - Palha de milho



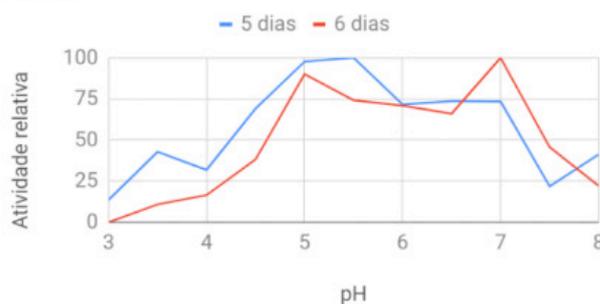
Atividade relativa de xilanase em função do pH - *T. reesei* - Palha de milho



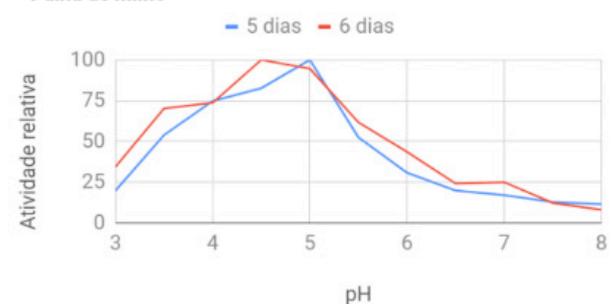
A

B

Atividade relativa de CBH em função do pH - *T. reesei* - Palha de milho



Atividade relativa de B-glucosidase em função do pH - *T. reesei* - Palha de milho



C

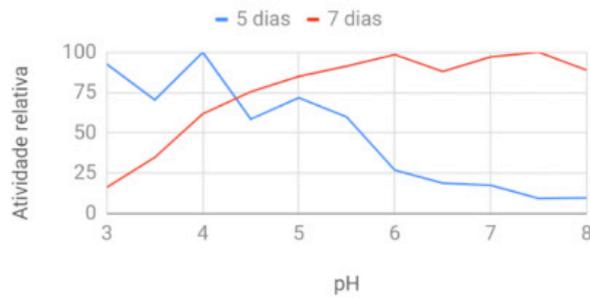
D

Figura 8. Atividade relativa em função do pH das enzimas endoglucanase (A), xilanase (B), CBH (C) e β -glucosidase (D) de *Trichoderma reesei* RP98 em meio suplementado com palha de milho.

O mesmo grau de homogeneidade não foi observado para as curvas de atividade relativa referentes ao *T. reesei* cultivado em palha de milho (figura 8), embora os resultados dos cultivos de 5 e 6 dias ainda apresentam grande semelhança. Também pode-se notar a ocorrência de atividades máximas em pH relativamente mais altos, em especial a xilanase, com pH ótimo de 6 para o extrato de 5 dias de cultivo e 6.5 para os extratos de 6 dias. Os pH ótimos determinados para a endoglucanase foram de 3.5 e 5 para os extratos de 5 e 6 dias, respectivamente. A celobiohidrolase apresentou valores máximos para o extrato de 5 dias em pH 5.5 e para o extrato de 6 dias em pH neutro, embora possa ser observado um pico de 90% em pH 5.

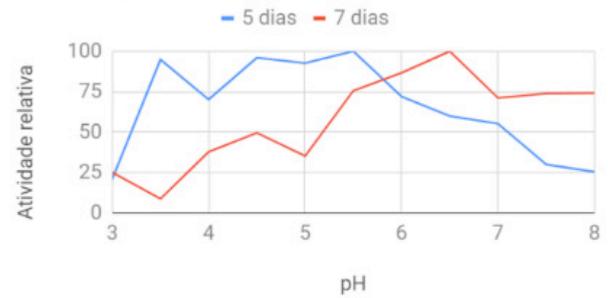
Nas figuras 9 e 10 abaixo podem ser observados os valores de pH ótimos determinados para as atividades enzimáticas dos extratos de *Mycothermus thermophilus*. Nos extratos com sabugo de milho, a endoglucanase apresentou atividade alta em pH baixo para o extrato de 5 dias, com atividade máxima em pH 4, e atividade alta em pH mais alto para o extrato de 7 dias, com atividade máxima em pH 6,5 (figura 9A). Para a xilanase também foi verificada atividade máxima em pH 6,5 para o extrato de 7 dias, o extrato de 5 dias apresentou pH ótimo de 5,5 (figura 5B). Os extratos de 5 e 7 dias apresentaram curvas de atividade relativa semelhantes para a celobiohidrolase, com atividades máximas em pH 5 e 5,5, respectivamente (figura 9C). A β -glucosidase apresentou pH ótimo de 3 para o extrato de 5 dias e pH ótimo de 6.5 para o extrato de 7 dias (figura 9D).

Atividade relativa de endoglucanase em função do pH - *M. thermophilus* - Sabugo de milho



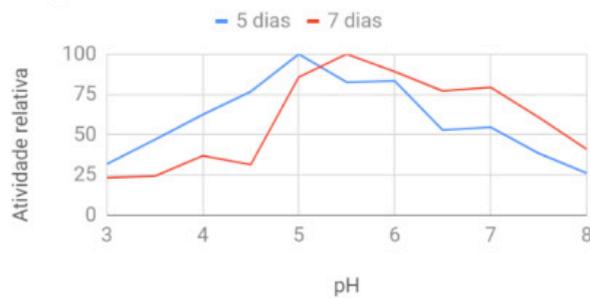
A

Atividade relativa de xilanase em função do pH - *M. thermophilus* - Sabugo de milho



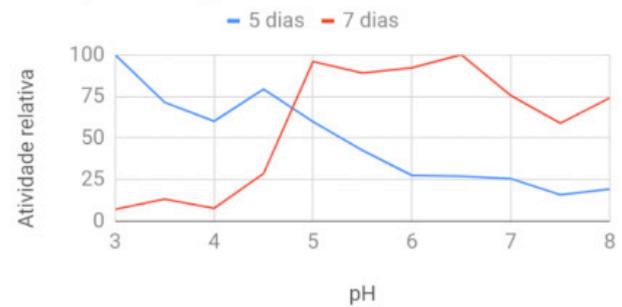
B

Atividade relativa de CBH em função do pH - *M. thermophilus* - Sabugo de milho



C

Atividade relativa de B-glucosidase em função do pH - *M. thermophilus* - Sabugo de milho



D

Figura 9. Atividade relativa em função do pH das enzimas endoglucanase (A), xilanase (B), CBH (C) e β -glucosidase (D) de *Mycothermus thermophilus* em meio suplementado com sabugo de milho.

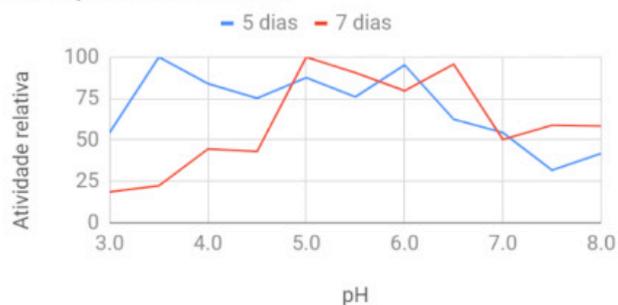
Nos cultivos com palha de milho, a endoglucanase apresentou atividades elevadas em pH baixo, com atividades máximas em pH 5 e 3 para os extratos de 5 e 7 dias, respectivamente (figura 10A). A xilanase teve atividade máxima em pH 3,5 e 5 para os extratos de 5 e 7 dias, respectivamente (figura 10B). As atividades relativas de celobiohidrolase descrevem curvas muito semelhantes para os extratos de 5 e 7 dias, com atividade máxima em pH 5 para ambos extratos (figura 10C), parecido com o verificado para o cultivo com sabugo de milho. A atividade de β -glucosidase do extrato de palha de milho também apresentou semelhanças com o verificado no cultivo com sabugo de milho, atividade elevada em pH baixo para o extrato de 5 dias e atividade elevada em pH mais alto para o extrato de 7 dias, com atividades máximas em pH 3,5 e 5,5, respectivamente.

Atividade relativa de endoglucanase em função do pH - *M. thermophilus* - Palha de milho



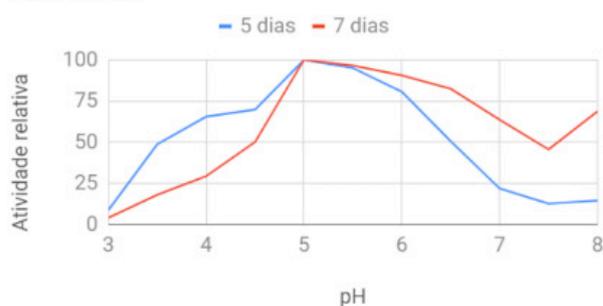
A

Atividade relativa de xilanase em função do pH - *M. thermophilus* - Palha de milho



B

Atividade relativa de CBH em função do pH - *M. thermophilus* - Palha de milho



C

Atividade relativa de B-glucosidase em função do pH - *M. thermophilus* - Palha de milho



D

Figura 10. Atividade relativa em função do pH das enzimas endoglucanase (A), xilanase (B), CBH (C) e β -glucosidase (D) de *Mycothermus thermophilus* em meio suplementado com palha de milho.

5 | CONCLUSÃO

Os fungos filamentosos *Trichoderma reesei* RP98 e *Mycothermus thermophilus* apresentaram resultados satisfatórios, apontando grande potencial para degradação de compostos lignocelulósicos. Entretanto, alguns pontos ainda devem ser mais estudados, visando um incremento de eficiência nas posteriores hidrólise e obtenção de etanol 2G. Visto que os dois fungos apresentam padrões e esforços diferentes de produção de enzimas, uma possível combinação dos extratos de cultivo destes fungos pode ser muito benéfica. Os efeitos de produtos e sais nas reações também podem ser caracterizados e posteriormente aplicados, assim como os efeitos da variação de pH e de temperatura estudados neste trabalho na hidrólise enzimática da biomassa.

REFERÊNCIAS

- A GRAY, K.; ZHAO, L.; EMPTAGE, M.. **Bioethanol**. Curr. Opin. Chem. Biol., v. 10, n. 2, p.141-146, 2006.
- BARRATT, R.W.; et al. **Wild-type and mutant stocks of Aspergillus nidulans**. Genetics, v. 52, p 233-246, 1965.
- BHALLA A, Bischoff KM and Sani RK (2015) **Highly thermostable xylanase production from a thermophilic Geobacillus sp. strain WSUCF1 utilizing lignocellulosic biomass**. Front. Bioeng. Biotechnol. 3:84. doi: 10.3389/fbioe.2015.00084

BRUMMELL, D.A. **Cell wall disassembly in ripening fruit**. *Funct. Plant Biol.*, v. 33, n. 2, p.103-119, 2006.

EMBRAPA. **Cultivo do Milho**. Disponível em: <https://www.spo.cnptia.embrapa.br/conteudo?p_p_id=conteudoportlet_WAR_sistemasdeproducaolf6_1ga1ceportlet&p_p_lifecycle=0&p_p_state=normal&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-1&p_p_col_count=1&p_r_p_-76293187_sistemaProducaoid=7905&p_r_p_-996514994_topicoid=8668>. Acesso em: 28 julho. 2019.

FURTADO, C. **Formação Econômica do Brasil**. 32ª Edição. Companhia Editora Nacional, São Paulo, Brasil, 2005.

IOANNIDOU, O. et al. **Investigating the potential for energy, fuel, materials and chemicals production from corn residues (cobs and stalks) by non-catalytic and catalytic pyrolysis in two reactor configurations**. *Renewable And Sustainable Energy Reviews*, [s.l.], v. 13, n. 4, p.750-762, maio 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2008.01.004>.

KSHIRSAGAR, S.d. et al. An isolated *Amycolatopsis* sp. **GDS for cellulase and xylanase production using agricultural waste biomass**. *Journal Of Applied Microbiology*, [s.l.], v. 120, n. 1, p.112-125, 9 dez. 2015. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/jam.12988>.

KUMAR, R.; SINGH, S.; SINGH, O.V. **Bioconversion of lignocellulosic biomass: biochemical and molecular perspectives**. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, v. 35, n. 5, p.377-391, 2008.

LIU, Kai et al. **High concentration ethanol production from corncob residues by fed-batch strategy**. *Bioresource Technology*, [s.l.], v. 101, n. 13, p.4952-4958, jul. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2009.11.013>.

MATSUOKA, S. et al. **A EVOLUÇÃO DO PROÁLCOOL**. *Agroanalysis*, Rio de Janeiro, p.29-30, 2016.

METREVELI, Eka et al. **Alteration of white-rot basidiomycetes cellulase and xylanase activities in the submerged co-cultivation and optimization of enzyme production by *Irpex lacteus* and *Schizophyllum commune***. *Bioresource Technology*, [s.l.], v. 241, p.652-660, out. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2017.05.148>.

MILLER, G.L. **Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar**. *Anal. Chem.*, v. 31, n. 3, p 426-428, 1959.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Setor sucroalcooleiro, 2019**. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/sustentabilidade/agroenergia/producao>. Acesso em: julho/2019

NITSCH, M.. **O programa de biocombustíveis Proalcool no contexto da estratégia energética brasileira**. *Rev. Econ. Polít.*, vol. 2, n. 2 (42), 1991.

NOVACANA. **Processos de Fabricação de Etanol**. Disponível em: <https://www.novacana.com/etanol/fabricacao/>. Acesso em maio/2018

OKUNO, F.M. **Desempenho econômico de um sistema de produção de biomassa da cana energia**. 2016. 94 f. Dissertação (Mestrado) - Engenharia de Sistemas Agrícolas, Universidade de São Paulo – ESALQ, Piracicaba, 2016.

OLSSON, Lisbeth et al. **Influence of the carbon source on production of cellulases, hemicellulases and pectinases by *Trichoderma reesei* Rut C-30**. *Enzyme And Microbial Technology*, [s.l.], v. 33, n. 5, p.612-619, out. 2003. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0141-0229\(03\)00181-9](http://dx.doi.org/10.1016/s0141-0229(03)00181-9).

Portal do Governo do Brasil. **Produção de milho impulsiona Safra 2018/2019, que deve alcançar 236,7 milhões de toneladas.** Disponível em: <<http://www.brasil.gov.br/noticias/economia-e-financas/2019/05-1/producao-de-milho-impulsiona-safra-2018-2019-que-deve-alcancar-236-7-milhoes-de-toneladas>>. Acesso em: 27 julho 2019.

SALLES-FILHO, S.L.M. et al. **Perspectives for the Brazilian bioethanol sector: The innovation driver.** Energy Policy, v. 108, p.70-77, 2017.

SCARCELLA, A.S.A. **Hidrólise e fermentação de resíduos celulósicos visando a produção de etanol.** 2016. 140 f. Dissertação (Mestrado) - Bioquímica, Universidade de São Paulo - FMRP, Ribeirão Preto, 2016.

SHARMA, D. et al. Bioenerg. Res. (2018) 11: 219. <https://doi.org/10.1007/s12155-017-9890-z>

SILVA, J. C. R. et al. A. **Purification and biochemical characterization of glucose-cellobiose-tolerant cellulase from *Scytalidium thermophilum*.** Folia Microbiol., v. 58, p. 561-568, 2013.

SHIELDS, S.; BOOPATHY, R.. **Ethanol production from lignocellulosic biomass of energy cane.** Int. Biodeterior. Biodegradation, v. 65, n. 1, p.142-146, 2011.

SOCOL, C.R. et al. **Bioethanol from lignocelluloses: Status and perspectives in Brazil.** Bioresour. Technol., v. 101, n. 13, p. 4820-4825, 2010.

TEW, T., COBILL, R., 2008. **Genetic improvement of sugarcane (*Saccharum spp.*) as an energy crop.** In: Vermerris, W. (Ed.), Genetic improvement of bioenergy crops. Springer Science + Business Media, LLC Nova Iorque, NY, p. 249-272.

TOMÉ, J.A.T.R. **Desenvolvimento do pré-tratamento por explosão com vapor da palha de cana-de-açúcar para produção de etanol de segunda geração via hidrólise enzimática.** 2014. 113 f. Dissertação (Mestrado) - Engenharia Química, Faculdade de Engenharia Química, UNICAMP, Campinas, 2014.

UNICA. **Moagem de cana-de-açúcar e produção de açúcar e etanol - safra 2016/2017.** Disponível em:<http://unicadata.com.br/historico-de-producao-e-moagem.php?idMn=32&tipoHistorico=4>. Acesso em: julho/2019

VILLELA, G.G.; BACILA, M. & TASTALDI, H. **Técnica e experimentos de bioquímica.** Ed. Guanabara Koogan, p. 523, 1973.

YUAN, S. F. et al. **Biochemical characterization and structural analysis of a bi-functional cellulose/xylanase from *Clostridium thermocellum*.** JBC, doi:10.1074/jbc.M114.604454, 2015.

XUE, Dongsheng et al. **Expression of a bifunctional cellulase with exoglucanase and endoglucanase activities to enhance the hydrolysis ability of cellulase from a marine *Aspergillus niger*.** Process Biochemistry, [s.l.], v. 52, p.115-122, jan. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2016.09.030>.

ÍNDICE REMISSIVO

A

Ambientes Aquáticos 150, 152, 156, 158

Análise Documental 150, 152

Arbovírus 28, 29

Áreas Modificadas 107, 151

Asparaginase 1, 2, 3, 4, 5

Atividades Biológicas 32

Atributos Florais 107, 110

B

Biocatalisador 92

Biodiversidade 92, 125, 147, 155

Biomassa Lignocelulósica 43

C

Caatinga 99, 100, 101, 102, 106, 107, 108, 109, 110, 113, 114, 137, 138, 139, 144, 146, 147, 148, 151

Células Tumerais 1, 2, 17, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 26, 27

Células Tumerais de Ehrlich 17, 27

Chloroleucon Dumosum 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105

Coagulação 7, 8

Conhecimento Tradicional 138, 139, 142, 144

Crescimento de Raiz 99, 100, 102

Criopreservação 17, 18, 19, 20, 25, 26, 27

D

Dieta 125, 130, 135

E

Ecologia 114, 115, 125, 135, 136, 148

Enzimas 3, 4, 7, 43, 47, 48, 49, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 75, 76, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 98, 104

Estudos Ambientais 150, 153

F

Fermentação Submersa 80, 82, 85, 88

Flavivírus 28, 29, 30

I

Impactos Ambientais 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 157, 158, 159, 160, 161

Inibidores de Proteases 7, 8

Intoxicação Por Plantas 116, 118

Inventário 116, 159

L

Lectina 32

Leucemia 1, 2

M

método do Peso da Gota 80

MicroRNAs 28, 29, 30

Mycothermus Thermophilus 43, 44, 49, 53, 54, 55, 58, 59, 60, 62, 63, 64

N

Nordeste 97, 104, 105, 110, 147, 150, 159, 160, 162

P

Pastagem 108, 109, 116, 118, 122

Plantas 16, 45, 99, 101, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 110, 112, 116, 117, 118, 121, 122, 123, 124, 137, 138, 139, 142, 143, 144, 146, 147, 148, 161

Polinização 106, 107, 108, 110, 111, 113, 114, 115, 137, 138, 139, 140, 141, 146, 147, 148

Proteases 6, 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 33, 72

Proteína 1, 3, 4, 5, 28, 32, 70, 117

Proteus Vulgaris 1, 2, 3, 4, 37

R

Reações Químicas 92, 93

Recursos Florais 138, 144, 148

S

Substâncias Húmicas 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105

Sulfeto de Hidrogênio 67, 68

Sumo 1, 2, 3, 4, 5

T

Tensão Superficial 80, 83, 84, 85, 86, 87, 88

Trichoderma Reesei 43, 44, 49, 51, 52, 55, 57, 58, 61, 62, 64, 65

Tumor 17, 18, 19, 20, 21, 25, 26, 27, 28, 29, 37, 39, 42

Tópicos Multidisciplinares em Ciências Biológicas 3

www.atenaeditora.com.br 

contato@atenaeditora.com.br 

[@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora) 

www.facebook.com/atenaeditora.com.br 

 **Atena**
Editora

Ano 2020

Tópicos Multidisciplinares em Ciências Biológicas 3

www.atenaeditora.com.br 

contato@atenaeditora.com.br 

[@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora) 

www.facebook.com/atenaeditora.com.br 

 **Atena**
Editora

Ano 2020