



## **INFLUÊNCIA DOS ÁCIDOS FERÚLICO E SINÁPICO NA DIGESTIBILIDADE DA PAREDE CELULAR DE MILHO (*Zea mays* L.)**

Aline Marengoni Almeida (IC-Balcão/CNPq/UEM), Wanderley Dantas dos Santos (Orientador), e-mail: wanderley.dantasdossantos@gmail.com

Universidade Estadual de Maringá / Departamento de Bioquímica / Maringá, PR.

### **Ciências Biológicas II/Bioquímica**

**Palavras-chave:** biomassa lignocelulósica, digestibilidade, hidroxicinamatos.

### **Resumo**

A lignina e o ácido ferúlico (FA) são apontados como fatores limitantes da digestibilidade da parede celular de biomassa lignocelulósica de gramíneas. Plantas de milho foram cultivadas em vermiculita irrigada com solução nutritiva. A partir do oitavo dia, ácido ferúlico ou sinápico foram adicionados à solução nutritiva nas concentrações de 0, 250 e 500  $\mu\text{M}$ . Após o período de cultivo, o comprimento, biomassa fresca, seca e a digestibilidade foram determinadas. Tanto os parâmetros biométricos como a digestibilidade não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos.

### **Introdução**

A produção de biocombustíveis a partir da biomassa lignocelulósica apresenta certa complexidade e limitações decorrentes da estrutura da parede celular. Dentre as limitações está recalcitrância da biomassa à digestão enzimática, relacionada à presença de lignina e, nas gramíneas, também à presença dos ácidos hidroxicinâmicos, como o ácido ferúlico (FA). A lignina é um polímero fenólico essencial para o crescimento e desenvolvimento da planta, visto que oferece resistência mecânica à parede celular de vasos e fibras (Simmons, Loqué e Ralph, 2010). O FA é um composto fenólico que pode apresentar-se ligado à lignina, proteínas e polissacarídeos, interligando-os covalentemente entre si. Estas ligações cruzadas apresentam uma relação negativa com a digestibilidade da parede celular estando relacionadas com processos de cessação do crescimento celular e defesa (Du et al., 2009). Os ácidos hidroxicinâmicos presentes no meio são absorvidos pelas plantas e incorporados à parede celular através do metabolismo de fenilpropanoides afetando o crescimento das plantas (Lima et al. 2013). Assim, o objetivo deste trabalho foi induzir modificações



na parede celular de milho (*Zea mays* L.) através de tratamentos com ácido ferúlico e sinápico e verificar sua interferência nos parâmetros biométricos e na digestibilidade enzimática da biomassa lignocelulósica.

## **Materiais e métodos**

### *Cultivo, tratamento e variáveis biométricas*

As sementes de milho (*Zea mays* cv. IPR- 164) foram esterilizadas com hipoclorito de sódio 2%, lavadas com água deionizada. Após a esterilização, foram germinadas no escuro entre duas folhas de papel umedecido. Após 48 horas, 40 sementes viáveis foram selecionadas e transplantadas em vasos de plástico de 1 L, contendo aproximadamente 500 ml de vermiculita. As plantas foram cultivadas por 7 dias com solução nutritiva e tratadas por outros 7 dias com ácido sinápico ou ferúlico nas concentrações de 0, 250 e 500  $\mu$ M. Ao final deste período, as plantas foram colhidas e medidas. Depois, foram separadas em raiz, caule e folhas e pesadas. A seguir, foram colocados em estufa a 60° C até peso constante.

### *Digestibilidade enzimática*

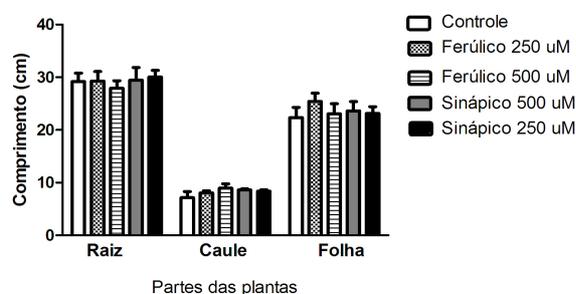
Os tecidos desidratados foram triturados em moinho de esfera. Duzentos miligramas de biomassa seca moída foram submetidos a sucessivas lavagens com etanol 80% até a eliminação dos açúcares solúveis. Os extratos de parede celular livres de açúcar, foram lavados 2x com água destilada e o precipitado insolúvel secado em estufa a 60° C. Quinze mg de biomassa lavada foram suspensas em 1 mL de tampão acetato 50 mM pH 5,0 e digeridas com 20 U/ml de xilanase a 50° C por 4 h. Os açúcares redutores liberados foram analisados pelo método do ácido 3,5-dinitrosalicílico (Miller, 1959). A leitura foi realizada no espectrofotômetro a 540 nm. O teor de açúcares redutores liberados foi expresso por mg/g de resíduo insolúvel em etanol.

### *Análise Estatística*

Os dados foram expressos como a média de 4 experimentos independentes  $\pm$  erro padrão da média. As diferenças estatísticas foram analisadas pelo teste de Newman-Keuls, com critério de significância de  $p \leq 0,05$ .

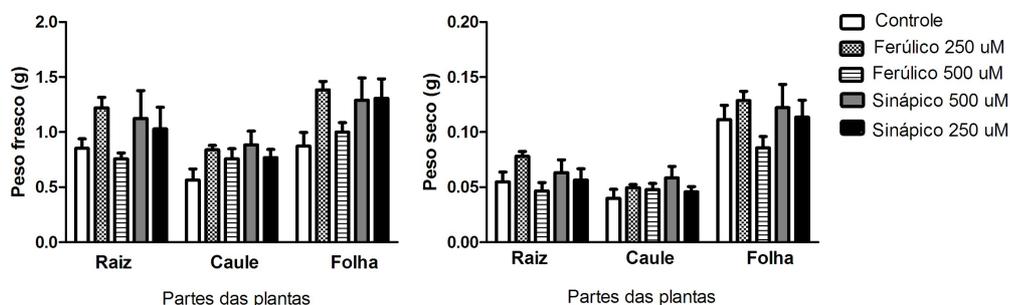
## **Resultados e Discussão**

Conforme apresentado na Figura 1, não houve alterações significativas no comprimento de raiz, caule e folha em nenhum dos tratamentos.



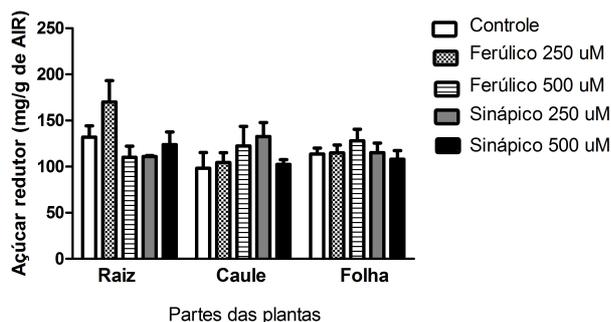
**Figura 1** – Comprimento das partes das plantas de milho. Valores médios  $4 \pm$  erro padrão da média, (n=4).

As biomassas frescas e secas (Figura 2), não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos. Não obstante, foi possível observar que os tratamentos com ácido ferúlico 250  $\mu$ M e o ácido sinápico em ambas as concentrações consistentemente tenderam a elevar as biomassas de raízes caules e folhas. Por outro lado, a biomassa fresca e seca das raízes e a biomassa seca das folhas apresentaram uma tendência de redução nos tratamentos com ácido ferúlico 500  $\mu$ M.



**Figura 2** – Biomassa fresca e seca das plantas de milho. Valores médios  $\pm$  erro padrão da média, (n=4).

A digestibilidade enzimática também não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos (Figura 3). Contudo, pode-se observar uma tendência de elevação na digestibilidade nos tratamentos com ferúlico.





**Figura 3** – Digestibilidade enzimática de milho, 4 horas. Valores médios  $\pm$  erro padrão da média, (n=4); AIR: resíduo insolúvel em etanol.

## Conclusões

As concentrações de ácido ferúlico e sinápico utilizadas não alteraram os parâmetros biométricos, assim como não acarretaram em diferenças significativas entre os tratamentos na digestibilidade enzimática. Entretanto, o tratamento com ácido ferúlico 250  $\mu$ M apresentou uma tendência consistente de elevação da biomassa do milho e na digestibilidade da raiz. Assim, serão conduzidos ensaios com concentrações próximas à 250  $\mu$ M para determinar se estes podem levar a um aumento significativo na produtividade de plantas de milho. Ensaios adicionais serão realizados a fim de analisar a interferência destes compostos no teor e na composição monomérica de lignina.

## Agradecimentos

Agradecemos ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo auxílio financeiro para a realização deste projeto.

## Referências

DU, L.; YU, P.; ROSSNAGEL, B.G.; CHRISTENSEN, D.A.; MCKINNON, J.J. Physicochemical Characteristics, Hydroxycinnamic Acids (Ferulic Acid, p-Coumaric Acid) and Their Ratio, and in Situ Biodegradability: Comparison of Genotypic Differences among Six Barley Varieties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 4777-4783, 2009.

LIMA, R.B.; SALVADOR, V.H.; SANTOS, W.D., BUBNA, G.A.; FINGER-TEIXEIRA, A.; SOARES, A.R.; MARCHIOSI, R.; FERRARESE, M.L.L.; Enhanced lignina monomer production caused by cinnamic Acid and its hydroxylated derivatives inhibits soybean root growth. **Plos One**, v 8, p. e80542, 2013.

MILLER, G.L. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959.

SIMMONS, B.A.; LOQUÉ, D.; RALPH, J. Advances in modifying lignin for enhanced biofuel production **Current Opinion in Plant Biology**, v. 13, p. 313-320, 2010.