

PIBIC-CNPq

Metabolização de Açúcares C5 de Caldo Fermentativo e Coprodução de Ácidos Orgânicos por Bactérias Isoladas de Frutos em Processo de Decomposição

PRONEM2

Elisa Bellan Menegussi, Sheila Montipó, Roselei C. Fontana, Henrique Baudel, Suelen O. Paesi, Marli Camassola



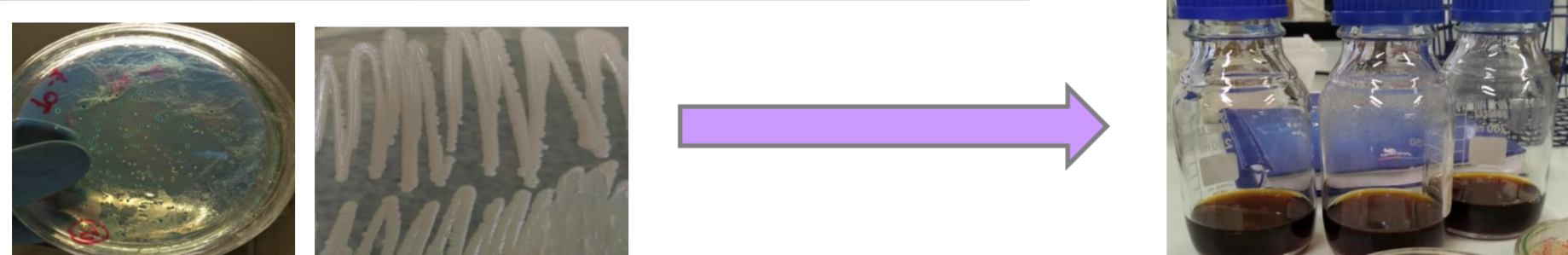
Introdução / Objetivo

Durante o pré-tratamento da biomassa lignocelulósica há a liberação das hemiceluloses que, por sua vez, acabam inutilizadas durante o processo fermentativo a bioetanol [1,2]. Entretanto, os açúcares C5, como a xilose, provenientes da hidrólise dessas hemiceluloses, podem ser empregados para a produção de insumos químicos de interesse industrial [2], como o ácido acético (AA) e o ácido láctico (AL). Esses ácidos orgânicos (AO) podem ser produzidos por bactérias pertencentes aos gêneros *Acetobacter* e *Lactobacillus*, por exemplo.

O presente trabalho tem como objetivo isolar, selecionar e identificar bactérias acéticas e lácticas aptas na metabolização de xilose, além de direcioná-las à coprodução de AA e AL a partir de açúcares remanescentes da fermentação de etanol 2G.

Experimental

Obtenção de espécies isoladas



Placas com culturas isoladas de bactérias em meio MRS-ágar modificado (20 g L⁻¹ xilose) contendo ou não azul de bromofenol e posterior cultivo em meio submerso.

Pré-tratamento do capim-elefante (CE) e análise da composição química



Pré-tratamento por explosão a vapor
205 °C, 10 min (ABT008)

Pré-tratamento com H₂SO₄
3% (v/v) em autoclave
121 °C, 30 min [3]

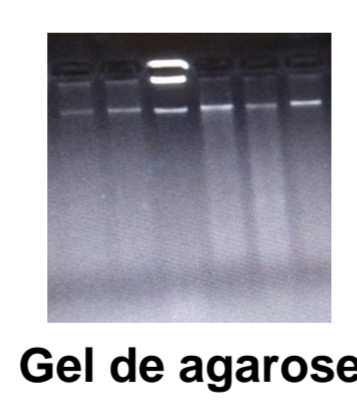
Carboidratos [2,3]

Caracterização molecular via reação em cadeia da polimerase (PCR)



Pré-cultivo
(24 h)

Amplificação do DNA
[4]

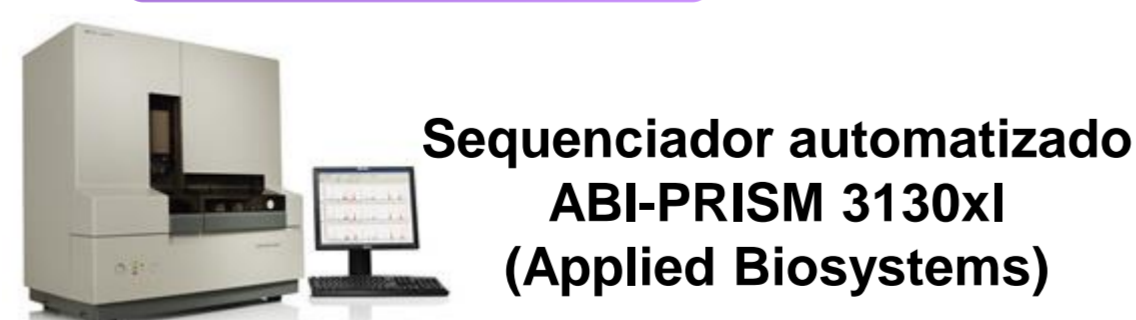


Purificação do DNA
Fosfonuclease I e fosfatase de camarão alcalina

Identificação

Comparação com sequências de DNA depositadas no GenBank

Sequenciamento



Resultados e Discussão

Dentre os 40 micro-organismos inicialmente isolados, 7 apresentaram resultados mais promissores, sendo que a linhagem LI (*Acetobacter* sp.), proveniente do limão-cravo, mostrou um rendimento máximo de AO em meio MRS modificado, atingindo 7,9 g L⁻¹ de AA e 15,0 g L⁻¹ de AL, com metabolização total do açúcar em um período de apenas 22 horas. A linhagem LA (*Lactobacillus brevis*), isolada da laranja-da-terra, também evidenciou resultados favoráveis, metabolizando toda a xilose em 36 horas de cultivo e produzindo 6,6 g L⁻¹ de AA e 13,2 g L⁻¹ de AL.

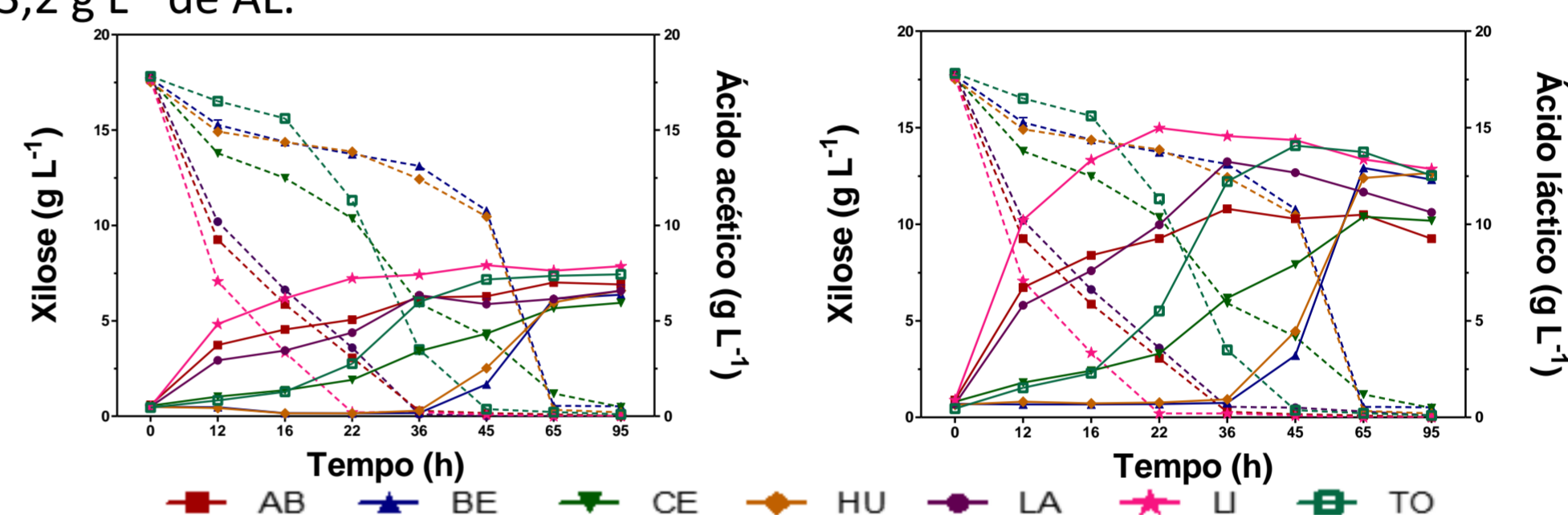


Figura 1. Produção de ácido acético e ácido láctico e consumo de xilose em meio MRS empregando micro-organismos isolados de abacate (AB); bergamota (BE); cenoura (CE); húmus (HU); laranja (LA); limão (LI); e tomate (TO).

Análise dos carboidratos presentes na biomassa pré-tratada:

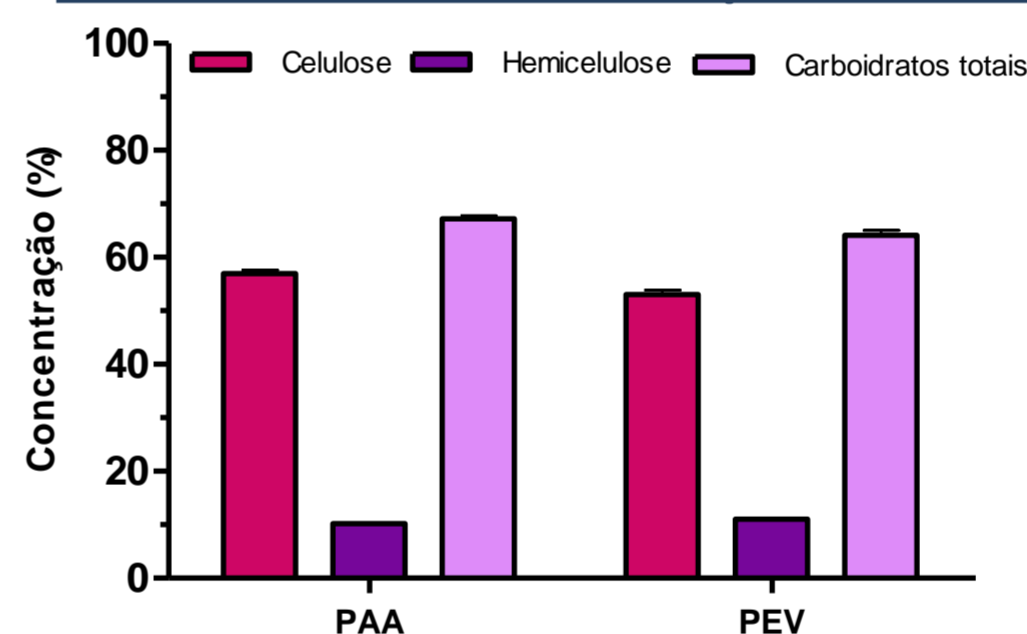


Figura 2. Análise composicional dos polissacarídeos presentes na biomassa de capim-elefante após pré-tratamento ácido em autoclave (PAA) e pré-tratamento por explosão a vapor (PEV).

Conforme a Figura 2, a composição de carboidratos gerais foi similar para os dois pré-tratamentos. A biomassa apresentou rendimento máximo de celulose com a emprego do pré-tratamento ácido, atingindo um valor de 67,18% do polissacarídeo e evidenciando que essa técnica de pré-tratamento, apesar da utilização de uma temperatura inferior, é eficiente para a liberação de açúcares.

Pelo fato do pré-tratamento com H₂SO₄ ser uma técnica de baixo custo que pode ser feita com a utilização de uma autoclave, como mencionado em Singh & Trivedi (2013) [3], essa metodologia será aplicada para a avaliação dos processos de fermentação acética e láctica com o emprego da biomassa de CE e das bactérias isoladas.

Sequenciamento do DNA:

Os micro-organismos encontrados em uma primeira análise foram identificadas com o auxílio da ferramenta BLAST como pertencentes aos gêneros *Lactobacillus* (isolado LA) e *Acetobacter* (isolado LI), os quais são identificados na literatura, respectivamente, como bactérias ácido lácticas e bactérias ácido acéticas.

Conclusão

A partir do presente estudo foi possível evidenciar a eficiência dos isolados na metabolização da xilose e na produção de AO. Estudos posteriores serão desenvolvidos com o intuito de avaliar as técnicas de pré-tratamento do CE aqui abordadas, simulando processos de hidrólise e fermentação etanólica e, assim, empregar a biomassa residual na produção de AO.

Referências Bibliográficas

- [1] Rubin, 2008. *Nature*. 454, 841-845.
[2] Montipó et al., 2018. *Bioresour. Technol.* 249, 1017-1024. [3] Singh & Trivedi, 2013. *Int. J. ChemTech Res.* 5, 727-734. [4] Ferris et al., 1996. *Appl. Environ. Microbiol.* 62, 340-346