

**Elisa Bellan Menegussi, Sheila Montipó, Roselei C. Fontana, Henrique Baudel, Marli Camassola (Orientadora)**

Laboratório de Enzimas e Biomassa, Instituto de Biotecnologia - Projeto: PRONEM 2

## INTRODUÇÃO

Na produção de etanol de segunda geração (2G), após a fermentação por *Saccharomyces cerevisiae*, os carboidratos C5 (pentoses) permanecem no meio [1,2], mas podem ser metabolizados por microrganismos hábeis em degradar tais açúcares [2], como é o caso das bactérias produtoras de ácido acético (BAA). A propensão das BAA na oxidação de carboidratos resulta na acumulação de ácidos orgânicos (AO), sendo o ácido acético (AA) um importante insumo químico, com inúmeras aplicações nas indústrias de alimentos, plásticos e têxteis, bem como em produtos farmacêuticos [3].

## OBJETIVO

Isolar e selecionar bactérias aptas na metabolização de xilose e empregá-las na produção de AA a partir dos açúcares remanescentes na fermentação etanólica 2G, e, ainda, converter o capim-elefante (CE) pré-tratado diretamente em AA.

## METODOLOGIA

### Seleção de microrganismos



BAA isoladas em meio MRS+ágar modificado (20 g L<sup>-1</sup> xilose) contendo azul de bromofenol (pH 5,5), com posterior cultivo em meio submerso (MRS modificado).

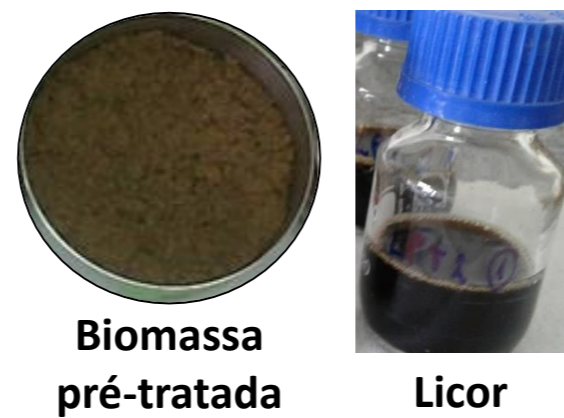
### Fermentação acética

#### Estratégia 1:



#### PRÉ-TRATAMENTO A VAPOR

- 1) 205 °C, 10 min
- 2) 205 °C, 10 min + ABT008



Capim-elefante

- 20% (m/v) biomassa pré-tratada
- 20 FPU/g Celluclast® 1.5L e Novozyme 188®
- 30 FPU/g Coquetel enzimático (*P. echinulatum*)
- Tampão citrato de sódio (pH 4,8, 50 mmol L<sup>-1</sup>)

#### HIDRÓLISE ENZIMÁTICA

50 °C, 150 rpm, 24 h

#### Estratégia 2:



#### HIDRÓLISE ENZIMÁTICA

50 °C, 150 rpm, 24 h

- 30 FPU/g Coquetel enzimático
- Tampão citrato de sódio

Açúcares residuais (etanol 2G)

#### FERMENTAÇÃO ACÉTICA

BAA selecionadas (10% (v/v))  
28 °C, 180 rpm, 48 h  
(pH ~5,0), 30 mL, adição de nutrientes

### Métodos analíticos

- **Concentração celular:** espectrofotometria ( $\lambda=600$  nm).
- **Analitos:** HPLC-RID (sistema Shimadzu; coluna Aminex® HPX-87H; 60 °C; 5,0 mmol L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; 0,6 mL min<sup>-1</sup>).

## RESULTADOS & DISCUSSÃO

Dentre os 30 microrganismos inicialmente crescidos em MRS-ágar, aqueles provenientes de laranja (LA), limão (LI), e castanha portuguesa (CP) foram selecionados para avaliar a conversão da xilose em AA em cultivo submerso (MRS). Apesar dos três isolados produzirem AA, LA e LI foram capazes de metabolizar tal açúcar em 24 h de cultivo (Fig. 1), e, portanto, ambos foram empregados para produzir AA conforme as estratégias 1, e 2.

Os perfis de consumo de xilose e produção de AA foram similares em relação aos isolados de LA e de LI, pertencentes a uma mesma estratégia (Fig. 2). As Fig. 2e e 2f evidenciam a eficiência na metabolização deste açúcar C5 em hidrolisado de CE, atingindo até 8,3 g L<sup>-1</sup> de AA (Fig. 2f).

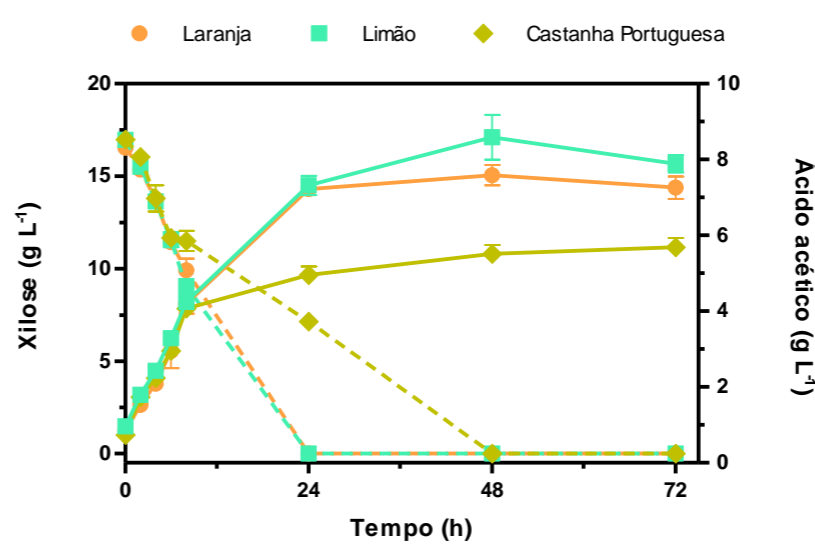


Figura 1. Produção de ácido acético e consumo de xilose em meio MRS.

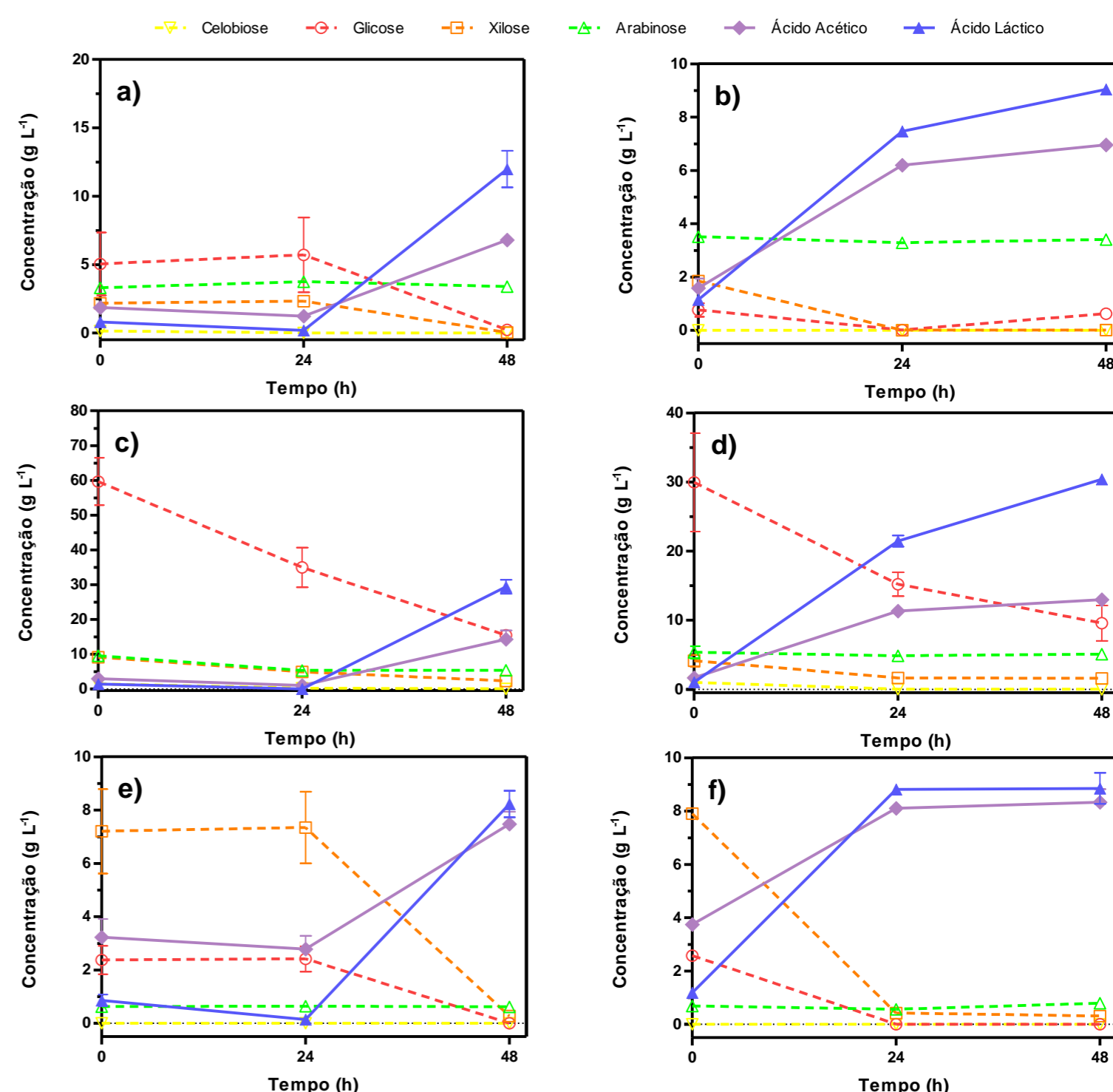


Figura 2. Cinética de produção de ácidos orgânicos e consumo de açúcares empregando bactérias isoladas de laranja (coluna esquerda) e de limão (coluna direita). Fermentações acéticas a partir dos carboidratos remanescentes da hidrólise e fermentação simultânea de capim-elefante pré-tratado a etanol (a, b), e da biomassa pré-tratada de capim-elefante (c, d), e do licor resultante (e, f).

Aproximadamente 7,0 g L<sup>-1</sup> de AA foram produzidos considerando os açúcares remanescentes na produção de etanol 2G (Fig. 2a e 2b). Ácido láctico (AL) foi concomitantemente produzido no decorrer dos processos. De modo geral, 43 g L<sup>-1</sup> de AO resultaram do uso direto da biomassa pré-tratada de CE (Fig. 2c e 2d).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A elevada conversão das pentoses do CE em AO, utilizando bactérias isoladas da LA e do LI, potencializa a viabilização econômica de biorrefinarias que processam biomassas lignocelulósicas para a produção de etanol 2G.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Rubin, 2008. *Nature*. 454, 841-845.
- [2] Montipó *et al.*, 2018. *Bioresour. Technol.* 249, 1017-1024.
- [3] Tammali *et al.*, 2003. *Let. Appl. Microbiol.* 37, 304-308.