

## SÍNTESE DE 2,3-BUTANODIOL POR *Enterobacter aerogenes*: AVALIAÇÃO DA INIBIÇÃO POR PRODUTOS

Projeto BDO3

Stefanie Lemos Barbosa (PIBIC-CNPq), Bruna Campos de Souza, Larissa Pereira Machado,  
Sabrina Carra, Eloane Malvessi

Laboratório de Bioprocessos – Instituto de Biotecnologia

PIBIC  
CNPq



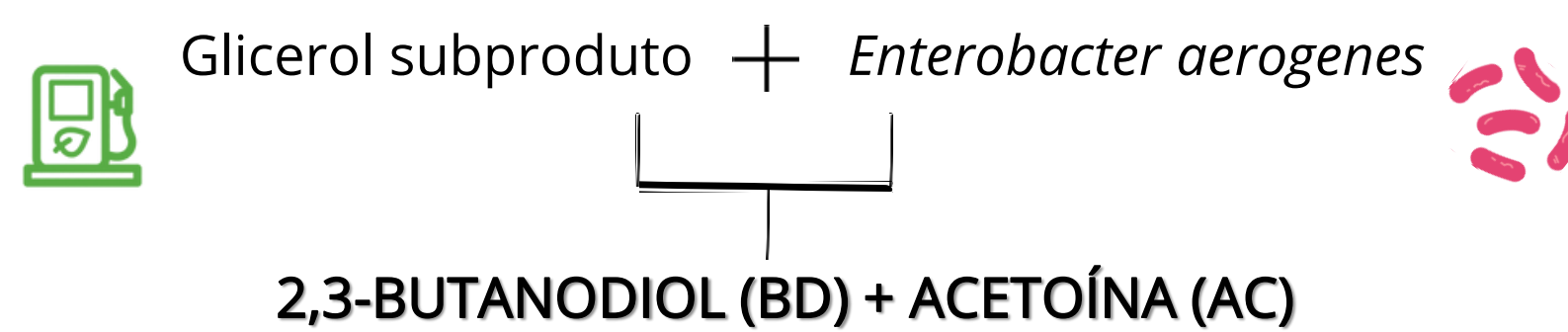
### Principais aplicações do 2,3-butanodiol

- Indústria de polímeros
- Obtenção de 1,3-butadieno
- Produção de solventes
  - Anticongelante
- Aditivo de combustíveis

Białkowska A.M. (2016). *World J Microbiol Biotechnol.* 32, 200.  
Ji X. J., Huang H., Ouyang P. K. (2011). *Biotechnol Adv.* 29: 351-364

## INTRODUÇÃO

### Produção fermentativa



### Produtos e coprodutos

Presença de elevadas concentrações dos principais produtos (BD e AC) e dos coprodutos (etanol e os ácidos láctico e acético) pode ser inibitória para o crescimento celular de *Enterobacter aerogenes*.

## OBJETIVO

Determinar as concentrações inibitórias dos principais produtos de fermentação - 2,3-butanodiol e acetoína - sobre o crescimento celular de *E. aerogenes*.

## MATERIAL E MÉTODOS



### 1. Ativação celular

ágar nutriente  
(37°C, 24h)



### 2. Inóculo

Suspensões celulares da cultura em volume necessário para atingir 0,2 unidades de DO em 100 mL de meio



### 3. Condições de cultivo

100 mL de meio mineral  
(Pirt & Callow, 1958)

+ 20 g/L glicerol subproduto

pH inicial ajustado em 5,5; monitorado com CaCO<sub>3</sub> 2,5 g/L  
37°C; 300 rpm; 12 h



### 4. Ensaios realizados

Concentrações iniciais de 0, 5, 10, 20 e 30 g/L dos principais produtos de fermentação (soma BD+AC)

### Métodos analíticos

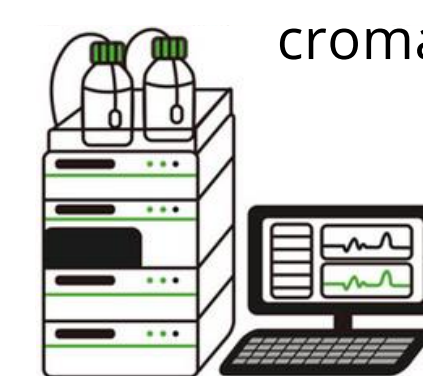


Crescimento celular: densidade óptica a 520 nm e por gravimetria.

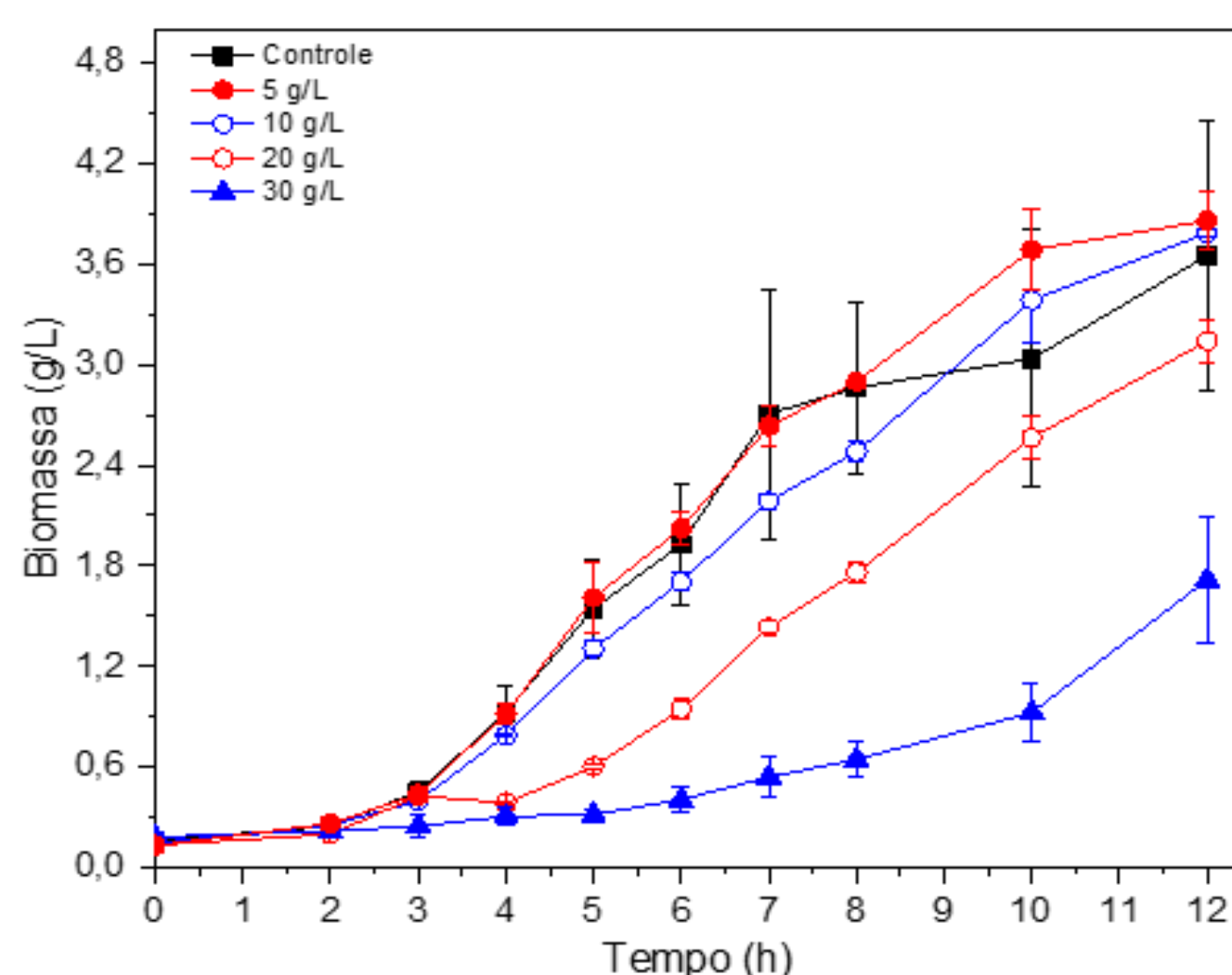
Concentração de substrato, produtos e subprodutos:

cromatografia em fase líquida de alta eficiência

(Souza *et al.*, 2021).



## RESULTADOS E CONSIDERAÇÕES FINAIS



Perfil de biomassa obtido em cultivos de *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, em regime descontínuo, com adição de 5 a 30 g/L de produtos de fermentação (BD+AC).

Resultados gerais dos testes de inibição por produtos obtidos em cultivos de *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048 (300 rpm, 37°C, pH inicial 5,5, S<sub>0</sub> 20 g/L).

	Controle	5 g/L	10 g/L	20 g/L	p-valor
X <sub>f</sub> (g/L)	3,650±0,802 <sup>a</sup>	3,858±0,177 <sup>a</sup>	3,783±0,023 <sup>a</sup>	3,141±0,129 <sup>a</sup>	0,415
μ <sub>xm</sub> (h <sup>-1</sup> )	0,731±0,049 <sup>a</sup>	0,726±0,038 <sup>a</sup>	0,658±0,030 <sup>a</sup>	0,395±0,014 <sup>b</sup>	0,002

X<sub>f</sub> - biomassa final; μ<sub>xm</sub> - máxima velocidade específica de crescimento celular. Ensaios em duplicata. Letras diferentes entre as colunas representam resultados estatisticamente diferentes.

\* Fase lag de cerca de 2 h na presença de 0, 5 e 10 g/L de BD+AC no meio.

\* Para 20 e 30 g/L de produtos, fase lag foi cerca de 4 h e 5 h, respectivamente.

\* Não observada diferença estatística para os valores de biomassa final nos ensaios com 0 a 20 g/L de produtos.

\* Valor de μ<sub>xm</sub> na presença de 20 g/L de BD+AC foi cerca de 45% inferior em relação aos demais.

\* No cultivo conduzido com 30 g/L de produtos, a biomassa final foi de 1,72±0,38 g/L, não sendo possível determinar o valor de μ<sub>xm</sub>.

\* Presença de 20 g/L de BD+AC no meio é inibitória para o metabolismo de *E. aerogenes*.

\* Como alternativa, técnicas de evolução adaptativa de culturas podem ser aplicadas a fim de aumentar a tolerância dos microrganismos aos produtos alvo da fermentação.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Białkowska A.M. (2016). Strategies for efficient and economical 2,3-butanediol production: new trends in this field. *World J Microbiol Biotechnol.* 32, 200.  
Ji X. J., Huang H., Ouyang P. K. (2011). Microbial 2,3-butanediol production: a state-of-the-art review. *Biotechnol Adv.* 29: 351-364.  
Pirt S.J., Callow D.S. (1958). Exocellular product formation by microorganisms in continuous culture. I - Production of 2,3-butanediol by *Aerobacter aerogenes* in a single stage process. *J Appl Bacteriol.* 21: 188-205.  
Souza, B. C. (2018). Dissertação de Mestrado. Instituto de Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul. 126 f. Bioprodução de 2,3-butanodiol em meio mineral contendo glicerol oriundo da produção de biodiesel.  
Souza, B. C.; Bossardi, F. F.; Furlan, G. R.; Folle, A. B.; Reginatto, C.; Polidoro, T. A.; Carra, S.; Silveira, M. M.; Malvessi, E. (2021). Validated High-Performance Liquid Chromatographic (HPLC) Method for the Simultaneous Quantification of 2,3-Butanediol, Glycerol, Acetoin, Ethanol, and Phosphate in Microbial Cultivations. *Anal. Lett.* 54: 2395-2410.



APOIO

