

Avaliação comparativa da capacidade fermentativa de leveduras consumidoras de xilose

Henrique C. T. Veras^{1,2*}, Nádia S. Parachin², Gabriel R. Fernandes³, João Ricardo M. de Almeida¹

Introdução

A biomassa lignocelulósica é uma das fontes de energia renovável para a produção de etanol (JEFFRIES, 2006). A levedura *Saccharomyces cerevisiae* possui capacidade para consumir carboidratos, como a glicose, presentes nesta matéria prima e convertê-los até etanol (ALMEIDA, et al., 2011). Embora esse processo fermentativo seja bem estabelecido apenas para hexoses (açúcares de 6 carbonos), aproximadamente 25% da biomassa lignocelulósica é composta por hemicelulose, parte da biomassa que possui significativa concentração de pentoses, especialmente xilose (SASSNER; ZACCHI, 2008). A conversão de xilose até etanol realizada por microrganismos tem potencial para aumentar em até 40% a produção de etanol de segunda geração.

Assim, o objetivo deste trabalho é investigar a capacidade fermentativa e a atividade metabólica das leveduras *Candida tenuis*, *Scheffersomyces stipitis*, *Spathaspora arborariae* e *Spathaspora passalidarum* para produção de etanol a partir de xilose.

Métodos

O crescimento e a capacidade de fermentação dessas leveduras foram avaliados em meio mínimo suplementado com 40g/L de xilose, em condições aeróbicas e microaeróbica. Amostras foram coletadas para monitoramento do crescimento celular, consumo do substrato e formação de produtos em intervalos regulares durante a fermentação. Na fase exponencial de crescimento foram coletadas amostras de extrato celular para avaliar a atividade das enzimas XR, XDH e XK. As atividades foram medidas seguindo-se Smiley e Bolen (1982). O desempenho fermentativo das quatro leveduras também foi analisado em hidrolisado de bagaço de cana-de-açúcar. Em paralelo, um modelo descritivo das vias de conversão de xilose a etanol dessas leveduras foi montado utilizando-se de ferramentas de bioinformática, como o banco de dados KEGG e o visualizador de mapas metabólicos IPATH (Qi et al., 2014).

1 EMBRAPA Agroenergia (Parque Estação Biológica – PqEB s/n°. W3 Norte Final- Brasília – DF, Brasil, 70770-901).

2 UnB- Universidade de Brasília (Campus Universitário Darcy Ribeiro, IB- Brasília – DF, Brasil, 707910-900),

3 FIOCRUZ- Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisa René Rachou (Avenida Augusto de Lima, 1715, Barro Preto – Belo Horizonte – MG, Brasil, 30190-002). *henrique.veras@colaborador.embrapa.br; joao.almeida@embrapa.br

Resultados e Conclusões

Entre as leveduras fermentadoras de xilose, *S. stipitis* e *S. passalidarum* destacaram-se por apresentar melhor taxa de consumo de xilose e crescimento (OD_{600} de 19.4 e 16.8, respectivamente). Na condição aeróbica, as leveduras avaliadas apresentaram crescimento duas vezes maior e demandaram menos tempo para alcançar o crescimento (OD_{32} ; 30; 21 e 16). Nas fermentações microaeróbicas, realizadas pelas leveduras *S. stipitis* e *S. passalidarum*, foi observada maior concentração final de etanol, cerca de 10g/L. Quando foi realizada a fermentação em hidrolisado, essas leveduras também mostraram melhor consumo de xilose, porém a taxa de crescimento e a concentração de etanol diminuíram. Em geral, observamos que os resultados das fermentações realizados em hidrolisados são semelhantes aos resultados obtidos em meio mínimo, destacando *S. stipitis* e *S. passalidarum* como as melhores fermentadoras de xilose. As atividades enzimáticas da xilose reductase e da xilitol desidrogenase dependentes de NAD(P)H em extratos celular foram medidas. A atividade específica para as enzimas de cada levedura mostraram-se variáveis, especialmente de acordo com o cofator utilizado. Baseando-se nos substratos e produtos da via de conversão da xilose, os EC numbers das enzimas foram obtidos e utilizados na montagem da via de conversão de xilose até etanol. Esses resultados, permitiram a modelagem do metabolismo de xilose nessas leveduras. Adicionalmente, novos alvos moleculares poderão ser identificados, na tentativa de melhorar a fermentação de pentoses e produção de bioetanol.

Apoio Financeiro

O projeto é apoiado pela EMBRAPA, CAPES e CNPq.

Referências

- ALMEIDA, J. R. M.; RUNQUIST, D.; SÁNCHEZ I NOGUÉ, V.; LIDÉN, G.; GORWA-GRAUSLUND, M. F. Stress-related challenges in pentose fermentation to ethanol by the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. **Biotechnology Journal**, Hoboken, v. 6, n. 3, p. 286-299, 2011.
- JEFFRIES, T. W. Engineering yeasts for xylose metabolism. **Current Opinion in Biotechnology**, London, v. 17, n. 3, p. 320-326, 2006.
- QI, Q.; LI, J.; CHENG, J. Reconstruction of metabolic pathways by combining probabilistic graphical model-based and knowledge-based methods. **BMC Proceedings**, London, v. 8, suppl. 6, n. S5, p. 1-10, 2014.
- SASSNER, P.; ZACCHI, G. Integration options for high energy efficiency and improved economics in a wood-to-ethanol process. **Biotechnology for Biofuels**, London, v. 1, n. 4, p. 1-11, 2008.
- SMILEY, K. L.; BOLEN, P. L. Demonstration of D-xilose reductase and D-xylitol dehydrogenase in *Pachysolen tannophilus*. **Biotechnology Letters**, London, v. 4, n. 9, p. 607-610, 1982.