Avaliação do uso do hidrolisado de bagaço de cana de açúcar para o crescimento de microrganismos

Luana da S. Rissi (PQ), Gil Raicher (PQ), Daniella da S Porgete (IC), Alfredo E. Maiorano (PQ), Maria Filomena de A. Rodrigues* (PQ) - *filomena@ipt.br

Laboratório de Biotecnologia Industrial - Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo. Av. Prof. Almeida Prado, 532, CEP 05508-901, São Paulo.

Palavras Chave: Bagaço de cana-de-açúcar, hidrólise enzimática, fermentação, *Escherichia coli*, *Saccharomyces cerevisiae*.

Introdução

A capacidade de utilização da mistura de açúcares redutores obtidos após a hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar por microrganismos é uma etapa crítica para atingir um processo que assegure uma conversão destes açúcares em bioprodutos de interesse comercial. A literatura¹ aponta a presença de diversos interferentes e inibidores para o crescimento microbiano nos produtos de hidrólise. Este trabalho tem como objetivo a avaliação de produtos da hidrólise enzimática de bagaço de cana, como fonte substrato para o crescimento dois microrganismos de relevância em processos biotecnológicos: *Saccharomyces cerevisiae*, levedura utilizada na produção de etanol, sendo o microrganismo a se considerar quando se fala de etanol de segunda geração e *Escherichia coli*, bactéria utilizada para a produção de diversos bioprodutos recombinantes, tais como biofármacos, proteínas entre outros.

Resultados e Discussão

O bagaço utilizado foi pré-tratado por explosão a vapor, a 300 a 310°C, pressão 17 kgf/cm², durante 6 minutos. Os ensaios de hidrólise enzimática² foram realizados com suspensão 5% (base seca) do substrato com uma mistura de Multifect CX 10 L, NS 50010 e Optimase CX 72L. O hidrolisado obtido foi empregado para a avaliação do crescimento microbiano. Utilizaram-se as linhagens de *S. cerevisiae* IPT 286 isolada da produção de etanol e as linhagens de *E. coli* XL1 Blue e *E. coli* IPT413, todas preservadas na Coleção de Culturas de Microrganismos do IPT. Foram testados 6 meios de cultivo contendo hidrolisado como principal fonte de carbono para o *E. coli* e outros 5 para o *S. cerevisiae*. O crescimento celular foi medido por contagem de colônias em placas.

Nenhuma das linhagens testadas cresceu satisfatoriamente em hidrolisado puro. A presença de inibidores do metabolismo microbiano, principalmente furfural, 5-hidroximetilfurfural e outros derivados da degradação da lignina podem ter dificultado o crescimento dos microrganismos¹. Deve-se considerar que o hidrolisado não possui

nutrientes essenciais para o crescimento microbiano.

Os meios contendo hidrolisado suplementado com nutrientes apresentaram crescimento dos dois microrganismos testados. Para *S. cerevisiae*, os melhores resultados foram obtidos com meio padrão YM/2 ($4,0 \times 10^7$ UFC/mL) e com a adição de extrato de levedura e $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ ao hidrolisado ($5,3 \times 10^7$ UFC/mL), em que se observou o aumento de aproximadamente 100 vezes em relação à concentração inicial de biomassa. Os meios constituídos de hidrolisado apenas com fontes de nitrogênio e fósforo ($(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ e uréia) mostraram valores máximos da ordem de $1,0 \times 10^7$ UFC/mL, ou seja, resultados baixos quando comparados com os demais meios ricos em nutrientes. Para *E. coli*, o Meio Mineral (M9) suplementado com Extrato de Levedura demonstrou ser mais eficaz para o crescimento de ambas as cepas testadas, superando os valores obtidos para o meio padrão LB/2, em especial no caso da linhagem *E. coli* XL1Blue.

Conclusões

O hidrolisado de bagaço de cana de açúcar, como principal fonte de açúcares, proporcionou, na formulação de meios de cultivo, bom crescimento celular dos microrganismos testados neste trabalho. Dentre os componentes do meio de cultura, os que exerceram maior influência no crescimento foram: extrato de levedura e fosfato de amônio para *S. cerevisiae* e componentes do meio M9 (sais minerais) e extrato de levedura para *E. coli*. Assim, a utilização desse resíduo da indústria sucroalcooleira como fonte de açúcar apresenta um grande potencial para usos em bioprocessos.

Agradecimentos

À Evonik do Brasil, ao CNPq pelo apoio financeiro ao projeto e pela bolsas concedidas e à Usina Vale do Rosário pelo fornecimento de bagaço.

¹Martín, C.; Almazán, O.; Marcet, M.; Jöhnsson, L. F. *International Sugar Journal*, 2007, v. 109, n. 1297, p. 33-39.

²Raicher, G, Silva,LR Bonomi, A Piccoli,RA Rodrigues,MFA, Maiorano, AE. Anais: *Symposium On Enzymatic Hydrolysis of Biomass*, 2009