



## V SIMPÓSIO DE BIOQUÍMICA E BIOTECNOLOGIA 05 a 07 de agosto de 2015, Londrina – PR

### Efeito da Temperatura na Produção de Etanol por Células Imobilizadas de *Zymomonas mobilis*

**Marina Rodrigues Moro<sup>1</sup> e Crispin Humberto Garcia-Cruz<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas – IBILCE/UNESP.

Rua Cristóvão Colombo, 2265. Jardim Nazareth, CEP 15054-000, São José do Rio Preto/SP.

Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos. Laboratório de Biopolímeros.

Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos

E-mail: [marinarmoro@hotmail.com](mailto:marinarmoro@hotmail.com)

#### RESUMO

A bactéria *Zymomonas mobilis* é interessante pela capacidade na produção de etanol em nível comparável ao obtido por leveduras, e a imobilização celular pode potencializar os resultados destes estudos. Dados demonstram que a temperatura e o pH usados para a fermentação com *Zymomonas mobilis* dependerão do que se deseja maximizar no final do processo. Este trabalho objetivou avaliar a produção de etanol por *Zymomonas mobilis* CCT 4494 imobilizada em esferas de alginato quando submetida a diferentes temperaturas de incubação, de 30 °C e 40 °C, diferentes concentrações de sacarose, durante 24, 48, 72 e 96 horas. Os melhores parâmetros fermentativos foram 48 horas de fermentação, temperatura de 30 °C e concentração de sacarose a 30%, resultando em 28,2 g/L de etanol.

**Palavras-chave:** imobilização, alginato, bioetanol, fermentação, bactéria.

#### INTRODUÇÃO

A indústria sucro-alcooleira no Brasil é de grande importância para a sua economia nacional. O etanol utilizado como combustível é menos poluente que a gasolina por se tratar de um derivado obtido de uma fonte de energia renovável, e quando biotransformado se decompõe como CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O. Em virtude da situação de destaque em que se encontra o Brasil em nível mundial no setor energético, é necessário selecionar outros micro-organismos eficientes no processo de produção de álcool, como algumas bactérias, que sirvam como alternativa às leveduras (BEKERS et al., 2001). Algumas bactérias, como a *Zymomonas mobilis*, apresentam a capacidade de produzir etanol em nível comparável ou até mesmo superior ao obtido por leveduras, transformando açúcares em etanol e gás carbônico, dependendo das condições de fermentação, principalmente temperatura e pH (ERNANDES, 2009). Para a imobilização de células microbianas e enzimas o alginato é um dos suportes mais utilizados, e representa uma metodologia simples e barata, formando esferas de aprisionamento quando em contato com soluções de sais bivalentes (ANANTHALAKSHMY; GUNASEKARAN, 1999). Assim, este trabalho objetivou avaliar a produção de etanol por *Zymomonas mobilis* CCT 4494 imobilizada em esferas de alginato, submetida às temperaturas de incubação de 30 °C e 40 °C, diferentes concentrações de sacarose, durante 24, 48, 72 e 96 h de fermentação.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

Uma solução de alginato de sódio 2% (v/v) inoculada com  $1,8 \times 10^4$  UFC/mL da bactéria *Z. mobilis* foi gotejada em solução de  $\text{CaCl}_2$  3% (v/v) para a formação de esferas as quais foram incubadas em meio sintético composto por extrato de levedura;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ;  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  e sacarose (5 a 30%). O pH inicial do meio sintético foi ajustado para 5,7; as fermentações descontínuas ocorreram nas temperaturas de 30 °C e 40 °C, em triplicata. Amostras do meio sintético foram recolhidas a cada 24 horas, até 96 horas. A concentração de etanol foi determinada por cromatografia gasosa.

### **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A análise dos resultados obtidos mostrou que os melhores parâmetros fermentativos para produção do etanol com pH inicial 5,7; a 30 °C, foram 48 h de fermentação na concentração de sacarose 30%, resultando em 28,2 g/L, como mostra a Tabela 1.

Tabela 1 – Produção de etanol (g/L), durante 96 horas de fermentação, pH inicial 5,7 e temperatura de 30 °C.

[Sacarose]	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h
<b>5%</b>	0.0	0.2	4.2	1.6	1.1
<b>10%</b>	0.0	3.6	7.4	6.0	4,2
<b>15%</b>	0.0	5.1	2.1	1.7	1.6
<b>20%</b>	0.0	3.7	1.0	0.5	0.7
<b>25%</b>	0.0	8.1	7.0	4.9	3.6
<b>30%</b>	0.0	10.4	28.2	11.4	9.4

Em outros trabalhos, como o de Ananthalakshmy e Gunasekaran (1999), foram utilizadas células livres de *Z. mobilis* B4286 e dois mutantes (ZML1 e ZML2), e a produção máxima de etanol foi de 55,1; 41,0 e 44,2 g/L, respectivamente, em 24 horas de fermentação, a 30 °C. A imobilização neste estudo possibilitou ao micro- organismo manter sua atividade metabólica e a produção de etanol, mesmo com mais de 48 h de fermentação, quando o pH já se torna menos favorável para as células vivas, quando estas se encontram livres no meio, além de possibilitar o reuso das células para um próximo ciclo. Neto e colaboradores (2005) realizaram estudo com células livres de *Zymomonas mobilis* em meio contendo 100 g/L de ART em melaço de cana-de-açúcar, 2,0 g/L de extrato de levedura e o tempo de fermentação entre 20 e 24 h resultando em uma produção máxima de 30 g/L de etanol, na temperatura de 30 °C, evidenciando que também o substrato influencia na eficiência da conversão deste em etanol pelo micro-organismo.

Na temperatura de incubação de 40 °C foi observado que o valor máximo de etanol foi de 4,0 g/L após 24 h de fermentação (Tabela 2).

De acordo com Borsari e colaboradores (2006) altas concentrações de sacarose e temperaturas elevadas estimulam a síntese de fruto-oligossacarídeos e a redução das mesmas (temperatura e concentração de sacarose) leva a um aumento na produção de etanol. No presente trabalho, a redução da temperatura de 40 °C para 30 °C, e a maior concentração de sacarose testada (30%) aumentaram a produção etanólica.

## V SIMPÓSIO DE BIOQUÍMICA E BIOTECNOLOGIA

### 05 a 07 de agosto de 2015, Londrina – PR

Tabela 2 - Produção de etanol (g/L), durante 96 horas de fermentação, pH inicial 5,7 e temperatura de 40 °C.

[Sacarose]	0 h	24 h	48 h	72 h	96 h
<b>5%</b>	0.0	1.2	1.3	1.3	1.2
<b>10%</b>	0.0	1.9	1.2	1.2	1.3
<b>15%</b>	0.0	2.4	1.4	1.3	1.2
<b>20%</b>	0.0	3.6	1.5	1.5	1.2
<b>25%</b>	0.0	1.7	0.5	2.8	1.3
<b>30%</b>	0.0	4.0	2.3	1.5	1.4

Para avaliação do efeito da temperatura (30 °C e 40 °C) na produção de etanol por células de *Zymomonas mobilis* imobilizadas, foi utilizado o Programa Minitab Statistical Software 16, por meio da análise fatorial ANOVA, com nível de significância  $p < 0,05$ , e verificou-se que a alteração da temperatura é um fator significativo ( $p < 0,001$ ).

### CONCLUSÕES

Os melhores parâmetros fermentativos para produção do etanol por células imobilizadas de *Zymomonas mobilis* CCT 4494 foram a menor temperatura e maior concentração de sacarose. Também as células imobilizadas apresentaram vantagens frente às adversidades do processo fermentativo, protegendo e proporcionando ao micro-organismo a manutenção das suas atividades metabólicas.

**Agências de Fomento:** CAPES

### REFERÊNCIAS

- ANANTHALAKSHMY, V. K.; GUNASEKARAN, P. J. Isolation and characterization of mutants from levan-producing *Zymomonas mobilis*. **Bioscience and Bioengineering**, v. 87, n. 2, p. 214-217, 1999
- BEKERS, M.; LAUKEVICS, J.; KARSAKEVICH, A.; VENTINA, E.; KAMINSKA, E.; UPITE, D. et al. Levan-ethanol biosynthesis using *Zymomonas mobilis* cells immobilized by attachment and entrapment. **Process Biochemistry**, v. 36, p. 979-986, 2001.
- BORSARI, R. R. J.; CELLIGOI, M. A. P. C.; BUZATO, J. B.; SILVA, R. S. S. F. Influence of carbon source and the fermentation process on levan production by *Zymomonas mobilis* analyzed by the surface response method. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 3, p. 604-609, 2006.
- ERNANDES, F. M. P. G. **Utilização de diferentes substratos para a produção de etanol, levana e sorbitol por *Zymomonas mobilis***. Tese de Doutorado, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2009.
- NETO, D. C.; BUZATO, J. B.; CELLIGOI, M. A. P. C.; OLIVEIRA, M. R. Optimization of ethanol production by *Zymomonas mobilis* in sugar cane molasses fermentation. **Semina Ciências Exatas e Tecnológicas**, v.6, n.1, p. 17-22, 2005.