

“Desenvolvimento de Linhagens Industriais de *Saccharomyces cerevisiae* Termotolerantes através da Metodologia de Engenharia Evolutiva”

Nicole Dezotti*, Allan H. F. de Melo, Isabella L. Santos, Alberto M. M. Lopes, Maria A. C. Silvello, Suéllen P. H. Azambuja, Gleidson S. Teixeira, Rosana Goldbeck.

Resumo

Este projeto objetiva desenvolver linhagens industriais de *S. cerevisiae* termotolerantes através da metodologia de engenharia evolutiva, visando selecionar linhagens mais adaptadas às condições de hidrólise (temperatura igual ou superior à 40°C) para aplicação na produção de etanol lignocelulósico mediante o processo de Sacarificação e Fermentação Simultânea (SSF).

Palavras-chave: *S. cerevisiae*, etanol 2G, SSF.

Introdução

O processo de Sacarificação e Fermentação Simultânea (SSF) é o método mais otimizado para produção de etanol lignocelulósico (2G), contudo sua eficiência depende de linhagens termotolerantes que atuem nas mesmas condições do complexo celulolítico (Chen et al., 2017).

A levedura *Saccharomyces cerevisiae* é o microorganismo mais robusto para a produção de etanol, chegando a uma concentração final de 10-12% em 48-72 horas, além de ser tolerante ao seu produto (mais de 15% de etanol). No entanto, fermenta em condições mesofílicas (Jeffries, 2006; Basso et al., 2008).

Desta forma, faz-se necessário a adaptação da fisiologia das linhagens de *S. cerevisiae* para crescimento em temperatura igual ou superior a 40°C, por meio de engenharia evolutiva, a fim de tornar viável o processo SSF com *S. cerevisiae* para produção de etanol 2G.

Resultados e Discussão

O processo de evolução resultou em um “pool” de 96 colônias isoladas de cada linhagem de *S. Cerevisiae* (Figura 1), das quais as duas melhores foram avaliadas quanto o crescimento celular ($\mu_{\max}$), produção e rendimento ($Y_{P/S}$) de etanol à 40°C, frente a suas parentais e um controle positivo (Figura 2 e Tabela 1).

Figura 1. Avaliação comparativa das linhagens de *S. cerevisiae* no processo de engenharia evolutiva.

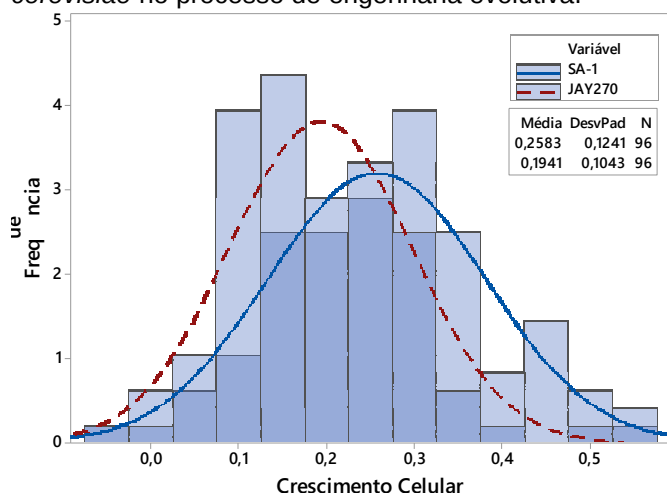


Figura 2. Avaliação das linhagens parentais e evoluídas de *S. cerevisiae* na Produção de Etanol à 40°C.

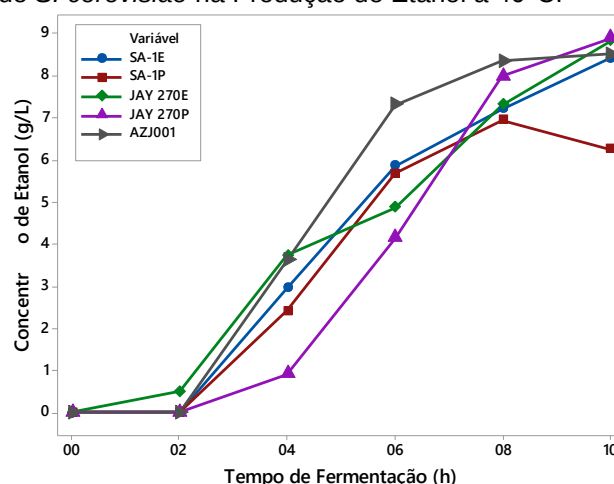


Tabela 1. Parâmetros Cinéticos da Produção de Etanol à 40°C por linhagens de *S. cerevisiae* evoluídas e parentais

Linhagem	$\mu_{\max}$ (h ⁻¹)	$Y_{P/S}$	P (g/L)
JAY 270E	0,614	0,440	8,82
JAY 270P	0,4116	0,451	8,90
SA-1E	0,561	0,443	8,42
SA-1P	0,540	0,324	6,26
AZJ001	0,605	0,434	8,51

*Linhagens seguidas de: E- evoluído; P- parental; AZJ001- Cepa Termotolerante

Conclusões

As linhagens evoluídas de SA-1 e JAY 270 apresentaram crescimento celular superior à de suas parentais (a 40°C) com $\mu_{\max}$ de 0,561 e 0,614 h⁻¹ (respectivamente), além de produção de etanol similar à da cepa controle termotolerante AZJ001, refletindo o sucesso da estratégia de evolução.

Agradecimentos

Aos órgãos de fomento vinculados à pesquisa: CNPq e FAPESP (2016/04602-3). À FEA-UNICAMP no âmbito do Laboratório de Engenharia Metabólica e Bioprocessos (LEMeB).

¹ Basso LC, de Amorim HV, de Oliveira AJ & Lopes ML, 2008. Yeast selection for fuel ethanol production in Brazil. FEMS Yeast Res, 8:1155–1163.

² Chen, W. C. Lin, Y. C.; Ciou, Y. L.; Chun, I. M.; Tsai, S. L.; Lan, J. C. W.; Chang, Y. K.; Wei, Y. H. Producing bioethanol from pretreated-wood dust by simultaneous saccharification and co-fermentation process. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers, 2017. v. 79, p. 43–48.

³ Jeffries TW, 2006. Engineering yeasts for xylose metabolism. Curr Opin Biotechnol, 17: 320-326.