

## **Estudo da aplicação de hemicelulases no reaproveitamento do hidrolisado hemicelulósico para a produção de bioetanol**

**Orientadora:** Jaciane Lutz Ienczak - CTBE

**Co-orientador:** Roberto Ruller – CTBE

**Laboratório Nacional de Ciência e Tecnologia do Bioetanol - CTBE**

O aumento na eficiência das plantas de produção de bioetanol nacionais tem sido evidente, devido a muitas contribuições tecnológicas para este setor. Com isso, observa-se um aumento na produção de bagaço de cana-de-açúcar e, eventualmente, a palha. Atualmente, estes são usados como combustíveis em caldeiras para produção de vapor e eletricidade, com a finalidade de suprir a demanda do processo de produção de açúcar e etanol.

Uma forma de aumentar a capacidade de produção nacional de bioetanol sem afetar a demanda energética e, conseqüentemente, contribuir para o meio ambiente está associada ao uso de parte do bagaço e palha gerados, como matérias-primas para a produção de bioetanol de segunda geração. Adotando-se esta rota, estudos para avaliar a viabilidade e eficiência de enzimas e/ou microrganismos eficientes para conversão destes subprodutos em açúcares fermentescíveis é de suma importância.

A biomassa lignocelulósica apresenta vantagens em relação ao caldo, méis e xaropes de cana, atualmente utilizado nas Usinas nacionais para a produção de bioetanol. Dentre estas vantagens podem-se citar a diminuição dos impactos ambientais, aumento na capacidade de produção nacional de bioetanol, entre outras. Para tornar esta biomassa acessível à enzimas e microrganismos são necessários um pré-tratamento (físico-químico ou biológico), o qual gera duas correntes principais: celulignina (fração sólida) e o hidrolisado hemicelulósico (fração líquida rica em pentoses) e; uma posterior hidrólise (química ou enzimática) da fração sólida. Ocorre que, após o pré-tratamento da biomassa, o principal açúcar liberado é a xilose. No entanto, atualmente são poucos os microrganismos capazes de fermentar pentoses (principalmente xilose) em etanol. Os microrganismos reportados na literatura (*Saccharomyces cerevisiae* recombinante, *Zymomonas mobilis*, *Schefferomyces* (anteriormente *Pichia*) *stipitis* e *Escherichia coli* recombinante) apresentam baixos rendimentos de conversão destes açúcares em etanol, quando comparados, por exemplo, aos microrganismos que fermentam hexoses e sacarose. Neste sentido, este trabalho se propõe a aplicar a técnica de engenharia

evolutiva para adaptação de *S. stipitis* NRRL Y7124 em hidrolisado hemicelulósico, visando melhorar os parâmetros cinéticos deste microrganismo neste substrato.

Outro desafio tecnológico, contemplado neste trabalho, está associado a tornar os açúcares presentes no hidrolisado hemicelulósico passíveis de fermentação. Isto se justifica pelo fato de que pré-tratamentos brandos, os quais geram correntes líquidas com baixa concentração de inibidores, geralmente formam elevadas concentrações de xilo-oligômeros, cujos não são fermentescíveis por leveduras. Neste sentido, este trabalho tem também como objetivo estudar a produção e aplicação de hemicelulases microbianas (endo-xilanases  $\beta$ -xilosidases) na hidrólise enzimática de xilo-oligômeros presente no hidrolisado hemicelulósico, visando uma posterior fermentação alcoólica por *Scheffersomyces stipitis* NRRL Y7124 adaptada. Primeiramente, serão testadas hemicelulases produzidas por uma linhagem de *Bacillus* hemicelulolítico, previamente isolada, em substrato proveniente de bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado (hidrolisado hemicelulósico) e farelo de trigo (condição controle). Em seguida, irá se verificar a eficiência de uma nova hemicelulase recombinante bifuncional, cuja construção foi elaborada pelo grupo de trabalho orientado pelo Dr. Roberto Ruller (programa de pesquisa básica – CTBE).

As enzimas produzidas serão comparadas com enzimas comerciais por sua capacidade de hidrólise de xilo-oligômeros, presentes no hidrolisado hemicelulósico. Após a hidrólise, os hidrolisados hemicelulósicos gerados serão testados em relação à fermentabilidade, a partir da fermentação por uma linhagem de *S. stipitis* NRRL Y7124 previamente adaptada por engenharia evolutiva.

**Palavras-chave:** hidrolisado hemicelulósico, engenharia evolutiva, *Scheffersomyces stipitis*, xilo-oligômeros, hemicelulases, bioetanol.