Projeto para o Programa PIBIC/CNPEM

Bioconversão de compostos aromáticos por bactérias visando o desenvolvimento de bioprocessos para valorização da biomassa

Pesquisador Responsável: Dra. Cíntia Regina Sargo
Instituição sede: Laboratório Nacional de Biorrenováveis – LNBR/CNPEM

Introdução e Estado da Arte

O uso indiscriminado de petróleo e de outros recursos fósseis não renováveis, seja como matéria-prima ou energia, tem colaborado significativamente para o aumento das emissões de gases de efeito estufa e mudanças climáticas, ambos considerados danos ambientais irreversíveis. Assim, desde o final do século XX, é crescente o interesse mundial em encontrar alternativas sustentáveis e ambientalmente amigáveis que possibilitem a substituição de componentes à base de fósseis por recursos renováveis e tecnologias de baixa ou mesmo zero emissão de carbono, atendendo, assim, a crescente demanda por energia e químicos [1].

A lignocelulose, biopolímero natural mais abundante na Terra, é atualmente considerada uma das matérias-primas mais promissoras, sendo um recurso renovável e de baixo custo. Os materiais lignocelulósicos são compostos principalmente por celulose, hemicelulose e lignina e o aproveitamento de todas essas frações pode promover a diversificação do portfólio de produtos a serem gerados em uma biorrefinaria lignocelulósica.

Em particular, a lignina, um complexo polímero aromático de alta heterogeneidade e que representa de 15 a 45% do peso seco na maioria das plantas, vem sendo apontada como a única matéria-prima renovável e abundante para síntese de produtos aromáticos de valor agregado, incluindo bioplásticos, resinas, biocombustíveis avançados, fibras de carbono de alto desempenho, nutracêuticos [2]. Cerca de 100 milhões de toneladas de lignina são geradas anualmente pela indústria de papel e celulose e biorrefinarias lignocelulósicas, no entanto, apenas 5% dessa lignina residual vem sendo empregada como combustível para produção de vapor e eletricidade [3]. Assim, apesar da relevância e do grande volume gerado, a lignina permanece sendo a fração lignocelulósica mais subutilizada.

Uma etapa central nos processos biológicos para aproveitamento da lignina é a quebra da macromolécula de lignina em compostos de baixo peso molecular

(monômeros, dímeros ou até oligômeros) que possam ser assimilados por microrganismos. Entretanto, a maioria das estratégias de despolimerização já estudadas resulta em uma mistura heterogênea de compostos aromáticos, sendo este um dos principais desafios a serem superados para a valorização efetiva da lignina [4], [5].

Uma possível estratégia para abordar a heterogeneidade química dos compostos derivados de lignina é o desenvolvimento de bioprocessos baseados em microrganismos capazes de canalizar uma grande variedade desses compostos e convertê-los em intermediários centrais do metabolismo (principalmente protocatecuato e catecol). Através desse processo, conhecido por "Funil Biológico", os principais intermediários podem convertidos no produto de interesse [6], [7]. Apenas alguns microrganismos, como os fungos *Trichoderma viride* e *Talaromyces bassochlamydoides*, e algumas bactérias, como *Pseudomonas* sp., *Burkholderia* sp., *Rhodococcus* sp. e *Sphingobium* sp. já foram reportados como sendo capazes de metabolizar múltiplos compostos aromáticos derivados de lignina [6], [8].

Objetivos

O presente projeto propõe investigar a bioconversão de compostos-modelo de lignina, como ácido p-cumárico, catecol e ácido ferúlico, pela bactéria *Pseudomona putida* e por bactérias isoladas por pesquisadores do LNBR que apresentaram potencial como plataforma microbiana a partir de correntes de lignina. Além disso, espera-se identificar estratégias promissoras de cultivo em biorreator de bancada que favoreçam o crescimento celular bacteriano a partir de compostos aromáticos e de uma corrente de lignina, visando contribuir para o avanço do desenvolvimento de bioprocessos para valorização da lignina. Os objetivos específicos consistem em:

- Avaliar o efeito de compostos-modelo de lignina sobre o crescimento celular de diferentes bactérias através de um planejamento experimental;
- Selecionar a bactéria com maior potencial para ser empregada em bioprocessos com substratos aromáticos
- Estabelecer a concentração "ideal" destes compostos-modelo de lignina;
- Determinar a cinética de crescimento da bactéria selecionada em cultivos em biorreator utilizando como substrato a concentração "ideal" dos compostos aromáticos separadamente e/ou combinados;
- Explorar diferentes estratégias de alimentação em cultivos em batelada-alimentada utilizando os compostos-modelo de lignina;
- Avaliar a eficiência do bioprocesso ao utilizar uma corrente de lignina real.

Metodologia

O planejamento experimental para avaliar o crescimento celular das bactérias na presença de diferentes concentrações dos compostos-modelo de lignina: ácido p-cumárico, catecol e ácido ferúlico será realizado em meio mineral mínimo durante ensaios em placas de 96 poços incubadas no leitor de placas Infinite 200 PRO (TECAN) a 30ºC e 180 rpm.

Os ensaios em biorreator serão conduzidos a 30°C em equipamento instrumentado tipo tanque agitado (BioFlo - New Brunswick) de 1,5 L de volume útil. O pH será mantido automaticamente em 7,8. Amostras serão retiradas ao longo dos ensaios para acompanhamento de crescimento celular (por medida de densidade ótica no comprimento de onda de 600 nm, bem como por medidas de massa seca) e consumo de substratos por análises de cromatografia líquida e gasosa.

Referências

[1] F. H. Isikgor and C. R. Becer, “Lignocellulosic biomass: a sustainable platform for the production of bio-based chemicals and polymers,” *Polym. Chem.*, vol. 6, no. 25, pp. 4497–4559, 2015.

[2] A. J. Ragauskas *et al.*, “Lignin valorization: Improving lignin processing in the biorefinery,” *Science*, vol. 344, no. 6185, 2014.

[3] L. Cao *et al.*, “Lignin valorization for the production of renewable chemicals: State-of-the-art review and future prospects,” *Bioresour. Technol.*, vol. 269, pp. 465–475, 2018.

[4] O. Y. Abdelaziz *et al.*, “Biological valorization of low molecular weight lignin,” *Biotechnol. Adv.*, vol. 34, no. 8, pp. 1318–1346, 2016.

[5] C. Xu, R. A. D. Arancon, J. Labidi, and R. Luque, “Lignin depolymerisation strategies: towards valuable chemicals and fuels,” *Chem. Soc. Rev.*, vol. 43, no. 22, pp. 7485–7500, 2014.

[6] K. Davis and T. S. Moon, “Tailoring microbes to upgrade lignin,” *Curr. Opin. Chem. Biol.*, vol. 59, pp. 23–29, 2020.

[7] J. G. Linger *et al.*, “Lignin valorization through integrated biological funneling and chemical catalysis,” *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 111, no. 33, pp. 12013–12018, 2014.

[8] Z. H. Liu, S. Xie, F. Lin, M. Jin, and J. S. Yuan, “Combinatorial pretreatment and fermentation optimization enabled a record yield on lignin bioconversion,” *Biotechnol. Biofuels*, vol. 11, no. 1, pp. 1–20, 2019.

[9] R. Morya, A. Sharma, M. Kumar, B. Tyagi, S. S. Singh, and I. S. Thakur, “Polyhydroxyalkanoate synthesis and characterization: A proteogenomic and process optimization study for biovalorization of industrial lignin,” *Bioresour. Technol.*, vol. 320, p. 124439, 2021.