

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**LEVEDURAS FERMENTADORAS DE PENTOSE E PRODUTORAS DE
XILANASES E CELULASES ASSOCIADAS AO BAGAÇO DE CANA-DE-
AÇÚCAR EM DECOMPOSIÇÃO**

Renata de Oliveira Santos

Belo Horizonte

2010

Renata de Oliveira Santos

Leveduras fermentadoras de pentoses e produtoras de xilanases e celulasas associadas ao bagaço de cana-de-açúcar em decomposição

Dissertação de mestrado apresentado ao programa de Pós-graduação em Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais.

Área de concentração: Microbiologia

ORIENTADOR: Prof. Dr. Carlos Augusto Rosa – ICB/UFMG

CO-ORIENTADORA: Profa. Dra. Fátima de Cássia Oliveira Gomes – Departamento de Química – Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais - CEFET-MG

Colaboradores:

Prof. Dr. Boris Stanbuck – Departamento de Bioquímica – Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Dr. Luiz Carlos Basso – Departamento de Ciências Biológicas - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – ESALQ / USP – Piracicaba / SP.

Belo Horizonte

Instituto de Ciências Biológicas
Universidade Federal de Minas Gerais

2010

Agradecimentos

À Deus, que nos deu a natureza e a inteligência...

Ao Carlos, pela oportunidade a que me foi dada, pela orientação, conselhos, ensinamentos e pelos anos de convivência tão enriquecedora pessoal e profissionalmente.

À Fátima, pela disponibilidade, atenção, carinho e por todo profissionalismo na co-orientação deste trabalho.

À Lu, pela amizade construída ao longo desses anos. Temos a alegria de compartilhar a vida pessoal e profissional. Obrigada pelos conselhos e pelos protocolos!

À Quel, minha querida! Companheira de projetos científicos e de muitas risadas!!! Muito obrigada por tudo!

À Mari, Aline, Anne e César pela ajuda na biologia molecular. Aprendi muito com a experiência e competência de vocês!

Às “Deboras” pela ativa participação no desenvolvimento deste trabalho. Eu sempre soube que podia contar com a dedicação de vocês! Gênicas estagiárias...

À Lu Berta, pela grande ajuda nas coletas, todas cheias de aventuras... Sua participação foi muito importante no início do trabalho.

À Pilo e Nati, companheiras de mestrado, aulas, trabalhos e experimentos... Que bom ter vocês sempre por perto!

Aos queridos do Laboratório de Ecologia e Biotecnologia de Leveduras: Lindi, Mona, Bárbara, Mari Zé, Camila, Vivi, Badotti, Inayara, Adriana, Larissa, Núbia, Mônica, Alessandra, Lilia,

Silvana, Breno, Fabi, Tiago, Michele, Polly, Marry (Fatinha), Elsiene, Valéria e Luis Rosa. A ótima convivência com vocês torna o trabalho ainda mais recompensador.

Ao Prof. Boris, pela colaboração no desenvolvimento dos ensaios.

Ao Prof. Basso por ter gentilmente me recebido em seu laboratório na ESALQ, e ter colaborado tão ativamente no desenvolver desse trabalho.

Ao Douglas, por ser o nosso “salvador da pátria” do departamento de Microbiologia e ter sempre nos atendido tão bem.

Ao Prof. Cláudio Bonjardim, coordenador do programa de pós-graduação em Microbiologia.

A todo pessoal da secretaria do departamento de Microbiologia: Iracema, Gina, Tatiana, Marcelo, Tiago e Fatinha.

Ao CNPq, pelo auxílio financeiro.

À Profa. Verinha, revisora deste trabalho. Sempre tão atenciosa e disponível.

À Carla, Dani, Carol, LÍlian, Leia, André e Leandro por terem torcido tanto por mim e pela confiança a que sempre me dedicam.

Por fim, agradeço aos meus pais, meus amores!... Pelo esforço e dedicação de vocês eu pude ter acesso a um estudo de qualidade. E hoje cumpro mais uma importante etapa na minha longa caminhada profissional.

Resumo

As fontes de carbono não-renováveis utilizadas predominantemente no transporte, são esgotáveis e geram riscos ambientais que precisam ser revistos. Neste contexto, o bioetanol surge como solução alternativa a essa questão, sendo sua utilização crescente no mundo desde as últimas décadas. Entretanto, o aumento da demanda do bioetanol requer desenvolvimento de estratégias que viabilizem o consumo deste produto, como a geração de etanol lignocelulósico. Este trabalho tem como objetivo isolar, identificar e caracterizar leveduras produtoras de enzimas extracelulares e capazes de fermentar D-xilose, L-arabinose e/ou D-celobiose para o possível uso desses microrganismos em processos de obtenção de etanol lignocelulósico. Meios diferenciais foram utilizados para o isolamento das leveduras, como meio a base de carboximetilcelulose, xilana, D-xilose e L-arabinose. Seiscentos e dezenove leveduras foram isoladas a partir de 95 amostras de bagaço de cana de açúcar em decomposição. O método do tubo de Durham foi utilizado como teste presuntivo para a seleção das linhagens fermentadoras, somente três isolados foram capazes de fermentar D-xilose. As linhagens foram identificadas como *Pichia stipitis*, *Kluyveromyces marxianus* e *Candida tropicalis*. Sessenta isolados obtidos em meio a base de carboximetilcelulose fermentaram D-celobiose. As leveduras fermentadoras de celobiose foram identificadas como pertencentes aos gêneros *Candida*, *Pichia*, *Trichosporon*, *Kluyveromyces* e *Lachancea*. Nenhum isolado foi capaz de fermentar L-arabinose. Vinte e duas leveduras foram positivas para o teste de produção de carboximetilcelulase e 38 isolados foram capazes de produzir xilanases. A maioria dos isolados produtores das exoenzimas foram descritos como pertencentes ao gênero *Trichosporon* e *Cryptococcus*. As leveduras descritas como fermentadoras de D-xilose foram submetidas ao teste de fermentação em escala de bancada e adaptação em hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana. A levedura *Pichia stipitis* HB26 – a foi mais eficiente em consumir toda a xilose no teste de fermentação, com produção de etanol. No teste de adaptação ao hidrolisado, a levedura *Candida tropicalis* HB61 – d apresentou melhor resultado em relação à eficiência de consumo das pentoses, com produção de etanol. Os resultados desse trabalho mostram o potencial biotecnológico de leveduras isoladas a partir de bagaço de cana nas etapas de produção de etanol a partir da biomassa lignocelulósica.