

Universidade Federal de Minas Gerais  
Instituto de Ciências Biológicas  
Departamento de Microbiologia

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Isolamento e caracterização de leveduras  
fermentadoras de D-xilose, L-arabinose ou D-  
celobiose e produtoras de celulases e xilanases  
associadas à madeira em decomposição**

**Raquel Miranda Cadete**

Belo Horizonte  
2009

Raquel Miranda Cadete

**Isolamento e caracterização de leveduras fermentadoras de D-xilose, L-arabinose ou D-celobiose e produtoras de celulases e xilanases associadas à madeira em decomposição**

Dissertação de Mestrado apresentada 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

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 Stambuck

Departamento de Bioquímica – Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Dr. Luiz Carlos Basso

Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – ESALQ

Profa. Evelyn de Souza Oliveira

Faculdade de Farmácia – Universidade Federal de Minas Gerais

Belo Horizonte  
Instituto de Ciências Biológicas  
Universidade Federal de Minas Gerais

2009

## **Agradecimentos**

Agradeço ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, pela bolsa de estudos e auxílio financeiro, e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG, pelo auxílio financeiro.

## Resumo

A segurança do abastecimento de uma fonte de energia sustentável que possa consistir em alternativas ao uso de combustíveis fósseis, e as exigências de mercado têm controlado os parâmetros para o desenvolvimento de novos sistemas energéticos, sendo o bioetanol uma parte da solução a essa questão. Os objetivos desse trabalho foram isolar, identificar e caracterizar leveduras produtoras de exoenzimas e capazes de fermentar xilose, arabinose e/ou celobiose para o possível uso desses microrganismos em processos de obtenção de bioetanol lignocelulósico. Quinhentos e oitenta e cinco leveduras foram isoladas a partir de 89 amostras de madeira em decomposição e 22 amostras de insetos relacionados a esse substrato. Utilizando-se o método de tubo de Durham para avaliar a ocorrência de fermentação, somente 22 leveduras (7 % das leveduras isoladas em meio com xilana ou xilose) foram capazes de fermentar D-xilose; a maioria dessas leveduras foi identificada como pertencente à espécie *Candida shehatae*. Trinta e nove isolados (23,4 % das leveduras isoladas em carboximetilcelulose e 42,8 % das leveduras isoladas de insetos) fermentaram celobiose. As leveduras fermentadoras de celobiose foram identificadas como pertencentes aos gêneros *Candida*, *Pichia*, *Debaryomyces*, *Hanseniaspora* e *Williopsis*. Nenhum isolado foi capaz de fermentar L-arabinose. Vinte e duas leveduras (14,2 % dos isolados em carboximetilcelulose) foram positivas para o teste de produção de carboximetilcelulase e 43 (20,3 % dos isolados obtidos em xilana e a partir de insetos) foram capazes de produzir xilanase. A maioria dos isolados produtores das exoenzimas testadas foi identificada como *Trichosporon* spp e *Cryptococcus laurentii*, respectivamente. Quatro novas espécies de leveduras foram encontradas, três capazes de fermentar D-celobiose e uma espécie fermentadora de D-xilose. As leveduras fermentadoras de D-xilose, *Pichia stipitis* UFMG-IMH 43.2 e *Spathaspora arborariae* sp. nov. UFMG-HM 19.1a foram as que apresentaram os melhores resultados de parâmetros fermentativos em relação à conversão de D-xilose a etanol. Os resultados desse trabalho mostram o potencial biotecnológico de microrganismos isolados a partir de madeira em decomposição e insetos nas etapas de produção de etanol a partir da biomassa lignocelulósica.

## Abstract

Security of a sustainable energy supply providing alternatives to fossil fuels, and market demands are controlling parameters for developing new energy systems, being bioethanol a part of the solution to this problem. The aims of this study were to isolate, identify and characterize yeasts producing exoenzymes and capable of fermenting xylose, arabinose and/or cellobiose to a possible employ of these microorganisms in lignocellulosic bioethanol production. A total of 585 yeasts were isolated from 89 rotting wood and 22 wood-inhabiting insects samples. In the Durham tube fermentation test, only 22 yeast strains (7 % of yeasts isolated from media with xylan or xylose) were able to ferment D-xylose; most of these strains was identified as *Candida shehatae*. Thirty nine yeast strains (23.4 % of yeasts isolated from carboxymethylcellulose and 42.8 % of yeasts isolated from insects) fermented cellobiose. The yeasts fermenting cellobiose were identified as belonging to the genera *Candida*, *Pichia*, *Debaryomyces*, *Hanseniaspora* and *Williopsis*. None yeast strain was able to ferment L-arabinose. Twenty-two yeast strains (14.2 % of yeasts isolates from carboxymethylcellulose) were positive to carboxymethylcellulase test and 43 (20.3 % of yeasts isolated from media with xylan and from insects) were capable do produce xylanase. Most of these producing exoenzyme strains were identified as *Trichosporon* spp. and *Cryptococcus laurentii*, respectively. Four new yeast species were found, three of them capable to ferment D-cellobiose and one fermenting D-xylose yeast strain. The fermenting D-xylose strains *Pichia stipitis* IMH 43.2 and *Spathaspora arborariae* sp. nov. UFMG-HM 19.1a showed the best results in fermentative parameters of D-xylose conversion to ethanol. The results of this work further indicate the biotechnological potential of microorganisms obtained from rotting wood and wood-inhabiting insects in the ethanol production from lignocelulosic biomass.