

# DESENVOLVIMENTO CELULAR DE LEVEDURAS INDUSTRIAIS EM MEIO HIDROLISADO DE BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR PRÉ-TRATADO COM OZÔNIO

BORDIGNON<sup>1</sup>, S. E.; PEREIRA<sup>2</sup>, J. de C.; LARANJA<sup>3</sup>, M. J.; SILVA<sup>4</sup>, R. da

<sup>1</sup> Programa de Pós-graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos – IBILCE/UNESP. *E-mail*: bordig@gmail.com

<sup>2</sup> Programa de Pós-graduação em Microbiologia – IBILCE/UNESP

<sup>3</sup> Graduação em Química Ambiental – IBILCE/UNESP

<sup>4</sup> Programa de Pós-graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos – IBILCE/UNESP. Programa de Pós-graduação em Microbiologia – IBILCE/UNESP

A ozonólise é uma eficiente forma de oxidação de compostos altamente recalcitrantes, como as biomassas lignocelulósicas, sem o emprego de alta temperatura e pressão ou reagentes químicos. Em bagaço de cana-de-açúcar, o O<sub>3</sub> reage preferencialmente com a lignina, promovendo a deslignificação de 50% ou mais do conteúdo inicial. Por outro lado, compostos fenólicos residuários permanecem aderidos à biomassa e podem exercer efeito inibitório sobre enzimas e leveduras. Neste estudo, avaliou-se o desenvolvimento celular de três leveduras industriais em meio hidrolisado enzimaticamente a partir de bagaço pré-tratado por ozonólise. As linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* JP-1, CAT-1 e PEDRA-2 foram igualmente inoculadas (densidade óptica inicial entre 0,060–0,100 em  $\lambda = 630\text{nm}$ ) em meio hidrolisado e sintético em ensaio de microplaca com 96 poços, composta por 225  $\mu\text{L}$  de meio e 25  $\mu\text{L}$  de inóculo em cada poço. O meio hidrolisado era composto por ( $\text{g L}^{-1}$ ): glicose (15,3), frutose (3,0) e outros carboidratos fermentescíveis (1,7); enquanto o meio sintético foi formulado com 20,0  $\text{g L}^{-1}$  de sacarose. O crescimento celular foi acompanhado durante 26 horas a 32 °C pela medida da densidade óptica ( $\lambda = 630\text{ nm}$ ) a cada 2 horas. Durante a fase exponencial (12 horas), as três leveduras apresentaram dificuldade de crescimento no meio hidrolisado, com níveis de inibição de 83,2%, 65,3% e 54,5% para CAT-1, PEDRA-2 e JP-1, respectivamente. O mesmo perfil inibitório parcial foi observado nas horas subsequentes. A levedura PEDRA-2 foi a que atingiu a maior concentração celular no meio hidrolisado, após 26 horas de crescimento. Dessa maneira, conclui-se que o meio hidrolisado proveniente de ozonólise é fermentescível, porém, exerce forte efeito inibitório sobre as leveduras, tornando o processo fermentativo dificultoso. Sugere-se a remoção dos compostos tóxicos da biomassa, ou a adaptação de leveduras para maior tolerância aos compostos fenólicos presentes em meios lignocelulósicos.

Palavras-chave: Bioetanol. Biomassa. Ozônio. Lignocelulose. Bagaço. Cana-de-açúcar.

## CELLULAR GROWTH OF INDUSTRIAL YEASTS IN HYDROLYSATE SUGARCANE BAGASSE PRETREATED WITH OZONE

BORDIGNON<sup>1</sup>, S. E.; PEREIRA<sup>2</sup>, J. de C.; LARANJA<sup>3</sup>, M. J.; SILVA<sup>4</sup>, R. da

<sup>1</sup> Programa de Pós-graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos – IBILCE/UNESP. *E-mail*: bordig@gmail.com

<sup>2</sup> Programa de Pós-graduação em Microbiologia – IBILCE/UNESP

<sup>3</sup> Graduação em Química Ambiental – IBILCE/UNESP

<sup>4</sup> Programa de Pós-graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos – IBILCE/UNESP. Programa de Pós-graduação em Microbiologia – IBILCE/UNESP

Ozonolysis is an efficient way to oxidize highly recalcitrant compounds, such as lignocelulosic biomass, without using temperature and pressure or chemical reagents. In sugarcane bagasse, O<sub>3</sub> reacts preferentially with the lignin fraction, promoting its delignification at 50% or more. On the other hand, residual phenolic compounds remain on biomass and can promote inhibitory effects into enzymes and yeasts. Our study evaluated the cellular growth of three industrial yeasts in hydrolyzate medium obtained after enzymatic action in sugarcane bagasse pretreated with ozone. *Saccharomyces cerevisiae* JP-1, CAT-1 and PEDRA-2 strains were inoculated (standardized initial concentration between 0.060–0.100 at  $\lambda = 630\text{nm}$ ) both in hydrolyzated and synthetic medium into a 96-well microplate assay, using 225  $\mu\text{L}$  of medium and 25  $\mu\text{L}$  of inoculum in each one. The hydrolyzated medium was composed by ( $\text{g L}^{-1}$ ): glucose (15.3), fructose (3.0) and other reducing sugars (1.7); whereas synthetic medium was prepared with 20.0  $\text{g L}^{-1}$  of sucrose. The cellular growth in both was monitored for 26 hours at 32 °C through optical density reads ( $\lambda = 630\text{ nm}$ ) performed every 2 hours. During the log phase (12 hours), all of yeasts showed limited growth in hydrolyzated medium. The inhibitory rates were 83.2%, 65.3% and 54.5% to CAT-1, PEDRA-2 and JP-1, respectively. In the next hours, similar profiles of partial inhibition were observed. The yeast PEDRA-2 was that one presented the highest growth in 26 hours in hydrolyzate medium. Thereby, we can see that the hydrolyzate medium from ozone is fermentable, but has strong inhibitory effects on yeasts, making the process infeasible. Thus, the toxic compounds need to be removed, or the yeasts need to be adapted to get tolerance in phenolic compounds presents in lignocelulosic products.

Keywords: Bioethanol. Biomass. Ozone. Lignocelullose. Bagasse. Sugarcane.