



Efeito da luz na produção de butanol por *Clostridium beijerinckii* DSM 6423

Palavras-Chave: LUZ, BUTANOL, FERMENTAÇÃO

Autores(as):

CAROLINE MAYUMI MIYAKAWA, FEQ – UNICAMP

JÚLIA ELLEN BARROS VIVAS (co-autora), FEQ – UNICAMP

BRUNO XAVIER FERREIRA (co-autor), FEQ – UNICAMP

Prof. Dr. ADRIANO PINTO MARIANO (orientador), FEQ – UNICAMP

Dr. CARLA FERREIRA DOS SANTOS (co-orientadora), FEQ – UNICAMP

INTRODUÇÃO:

O biobutanol é um biocombustível cujo mercado vem se tornando cada vez mais atrativo, visto que além de sua utilização principal, ele pode ser aplicado em processos de indústrias alimentícia, cosmética e farmacêutica (Mariano, 2011). A produção de butanol através da fermentação IBE (Isopropanol-Butanol-Etanol) ainda não é comumente utilizada, uma vez que a eficiência dessa reação é relativamente baixa quando comparada a fermentação ABE (Acetona-Butanol-Etanol), pois o microrganismo usado na IBE (*Clostridium beijerinckii* DSM 6423) é inibido com baixas concentrações de butanol, afetando a produtividade e o rendimento, de modo a tornar esta rota fermentativa economicamente pouco viável. No entanto, a produção de acetona como um dos produtos da fermentação ABE não é desejável em processos de grande escala por ser altamente corrosiva, além de possivelmente causar um desequilíbrio desfavorável se houver aumento da quantidade no mercado, deste modo a fermentação IBE utilizando o *Clostridium beijerinckii* DSM 6423 se mostrou uma alternativa para este tipo de produção (Vieira et al., 2019).

Sabendo dos problemas relacionados a produtividade da fermentação IBE, foram encontrados estudos sobre a aplicação de luz LED em caldos fermentativos testando vários comprimentos de onda com intuito de analisar as condições que melhoram a ação dos microrganismos (Jeong, 2018). Observou-se inclusive que a eficiência dessa aplicação em fermentações com produtos similares ao butanol é comprovada (Zhang et al., 2022; Shu et al., 2009). No entanto, ainda não existem estudos sobre a utilização do LED para tentar retardar a inibição do *Clostridium beijerinckii* DSM 6423.

Assim, o objetivo desse projeto foi projetar e construir o sistema de aplicação de luz à fermentação, além de estudar os efeitos da aplicação de luz LED em uma fermentação IBE por *Clostridium beijerinckii* DSM 6423 utilizando diferentes comprimentos de onda para analisar o impacto de cada cor (azul, vermelho e branco) nas fases da fermentação (acidogênica e solventogênica).

METODOLOGIA:

Microrganismo e preparação do inóculo

A reativação do *Clostridium beijerinckii* DSM 6423 foi realizada dentro da câmara anaeróbica seguindo as recomendações do site do fornecedor. Para isso, a ampola de vidro que envolvia a cultura foi quebrada e a cultura foi reidratada com a adição de 0,5 ml de meio de cultivo TGY (triptona-glicose-extrato de levedura). Posteriormente, a cultura hidratada foi homogeneizada e transferida igualmente para dois tubos de ensaio, nos quais foram adicionados mais 5 ml de meio TGY e levados para a incubadora por 24 horas a 35 °C. Nas imagens a seguir é possível observar a cultura antes (Figura 1) e após a incubação (Figura 2).



Figura 1 – Cultura antes da incubação



Figura 2 – Cultura após a incubação

Em seguida, 1 ml de cada tubo foi misturado em 4 ml de TGY e foram incubados novamente a 35°C por 24 horas. Para finalizar a formação de esporos, o conteúdo dos tubos foi transferido para tubos falcon e foram adicionados mais 20 ml de TGY em cada tubo antes da última incubação a 35°C por 120 horas. A formação dos esporos pode ser identificada na imagem abaixo (Figura 3).



Figura 3 – Cultura com formação de esporos

Após a centrifugação, a fase líquida foi descartada e os esporos foram reservados na geladeira com água autoclavada.

Projeto e construção do sistema de aplicação de luz

A construção do sistema de iluminação considerou as dimensões da câmara de anaerobiose, o alcance da iluminação por toda a solução, a intensidade luminosa, as cores disponíveis e a mobilidade dos materiais dentro da câmara. Para isso, foram analisadas três opções principais:

1. Fita de LED
2. Barra de LED
3. Bulbo de LED

Além disso, foi desenvolvida a disposição dos materiais auxiliares para que a iluminação fosse ideal.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Após a avaliação dos três tipos de lâmpada LED considerando todos os quesitos já citados, a lâmpada de bulbo foi selecionada para o projeto por possui alta intensidade luminosa, além de fácil mobilidade dentro da câmara já que é possível controlá-la a partir de um aplicativo de celular. Assim, o projeto contou com 6 lâmpadas de LED inteligentes, 6 soquetes para encaixar as lâmpadas e um filtro de linha para conectar os soquetes, de modo que essa base esteja posicionada abaixo das soluções, para isso foi necessário dois suportes de acrílico com tamanhos distintos, sendo o maior para apoiar as soluções e o menor (com a parte interna coberta de papel alumínio) na parte superior da solução com intuito de refletir a iluminação, além disso foram utilizados suportes pequenos abaixo de cada suporte de acrílico e um mini ventilador para garantir a circulação de ar. O figura a seguir ilustra a idealização do projeto (Figura 4).

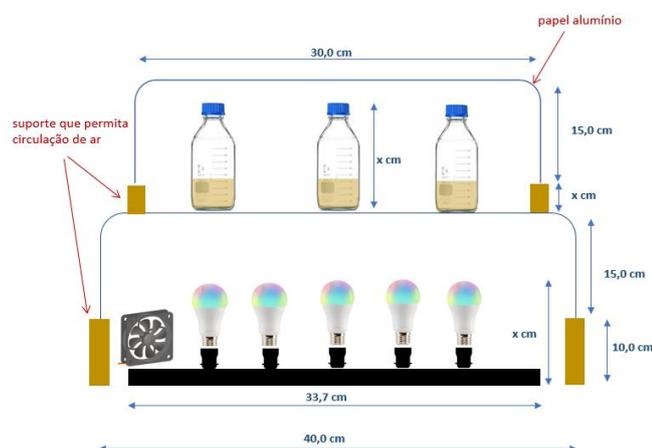


Figura 4 – Projeto de iluminação das soluções

A montagem final do sistema com os elementos dentro do laboratório pode ser observada pode ser observada nas imagens abaixo (Figuras 5 e 6):

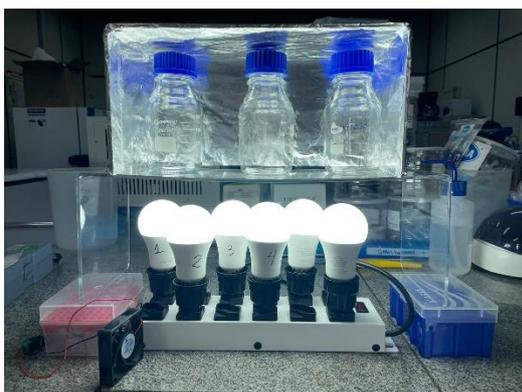


Figura 5 – Sistema de aplicação de luz

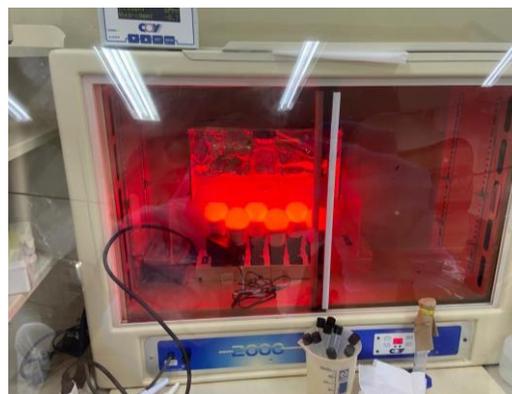


Figura 6 – Sistema luminoso dentro da incubadora

Devido ao cancelamento da bolsa de iniciação científica na metade do projeto, não foi possível alcançar resultados em relação às fermentações.

BIBLIOGRAFIA

Culture Technology. **DSMZ - German Collection of Microorganisms**, 2023. Disponível em: <www.dsmz.de/cultivation-microbes>. Acesso em: 08/02/2023.

PEREIRA, Erlon; NEVES, Thalita. **PRODUÇÃO DE BIOTECNOLÓGICA DE BUTANOL**. Revista da Universidade Vale do Rio Verde, Três Corações, v. 14, n. 2, p. 777-799, ago./dez. 2016.

VIEIRA, Carla Ferreira dos Santos; FILHO, Francisco Maugeri; FILHO, Rubens Maciel; MARIANO, Adriano Pinto. **Isopropanol-butanol-ethanol (IBE) production in repeated-batch cultivation of Clostridium beijerinckii DSM 6423 immobilized on sugarcane bagasse**. Elsevier, Campinas, p. 1-7, set./nov. 2019.

MARIANO, Adriano Pinto. **Improvements in Biobutanol Fermentation and Their Impacts on Distillation Energy Consumption and Wastewater Generation**. Springer Science+Business Media, LLC, Campinas, p. 504-514, 2011.

Jeong, S.-Y., Velmurugan, P., Lim, J.-M., Oh, B.-T., Jeong, D.-Y., 2018. **Photobiological (LED light)-mediated fermentation of blueberry (Vaccinium corymbosum L.) fruit with probiotic bacteria to yield bioactive compounds**. LWT - Food Science and Technology 93, 158–166.

Zhang, Y., Cortez, J.D., Hammer, S.K., Carrasco-López, C., Echauri, S. A. G., Wiggins, J. B., Wang, W., Avalo, J.L., 2022. **Biosensor for branched-chain amino acid metabolism in yeast and applications in isobutanol and isopentanol production**. Nat. Commun. 13, 270.

Shu, C;-H., Huang, C.-K., Tsai, C.-C., 2009. **Effects of light wavelength and intensity on the production of ethanol by Saccharomyces cerevisiae in batch cultures**. J. Chem. Technol. Biotechnol. 2009; 84: 1156–1162.