

EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DE CÉLULAS IMOBILIZADAS DE *Zymomonas mobilis* NA PRODUÇÃO DE ÁCIDO LACTOBÍÔNICO



BIC
FAPERGS

Natasha Possamai, Daniel T. Mioranza, Sabrina Carra, Eloane Malvesti e Mauricio M. Silveira

LABORATÓRIO DE BIOPROCESSOS – INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA/UCS

Sigla do Projeto: LACTOBÍÔNICO 3

E-mail: npossama@ucs.br

IVF Encontro de Jovens Pesquisadores de UCS

Introdução

Ácido lactobiónico e sorbitol podem ser formados a partir de lactose e frutose, respectivamente, em reações catalisadas pelas enzimas glicose-frutose oxidoreductase (GFOR) e glucono- δ -lactonase (GL) presentes em células de *Zymomonas mobilis*. O ácido lactobiónico tem aplicações na área médica e de cosméticos e o sorbitol, nas indústrias de alimentos e farmacêutica (Yu & Van Scott, 2004; Jonas & Silveira, 2004). Visando o aumento da estabilidade enzimática e o emprego de elevadas concentrações celulares no meio reacional, a técnica de imobilização celular tem sido utilizada, permitindo, ainda, a separação dos biocatalisadores da fase líquida na qual se encontram os produtos e o emprego de diferentes configurações de biorreatores (Zanin & Moraes, 2004; Cao, 2005; Mateo *et al.*, 2007). Por outro lado, os sistemas imobilizados sofrem o efeito que as limitações de transporte de massa através do suporte podem impor sobre a cinética das transformações bioquímicas. Neste contexto, este trabalho avaliou a bioprodução de ácido lactobiónico pelo sistema imobilizado de *Zymomonas mobilis*, considerando o efeito da concentração de biocatalisador na etapa de imobilização em alginato de cálcio e a concentração empregada no processo de bioconversão.

Material e Métodos

Microrganismo: *Zymomonas mobilis* ATCC 29191.

Meio de cultivo (g/L): para o preparo do inóculo e produção de biomassa/enzimas: (NH₄)₂SO₄, 2,0; MgSO₄.7H₂O, 1,0; FeSO₄.7H₂O, 0,01; KH₂PO₄, 3,5; extrato de levedura bruto, 7,5.

Condições operacionais

Ativação de *Z. mobilis*: 20g/L glicose 30°C / 24h

Inóculo: 100g/L de glicose + 5g/L de CaCO₃ (0,45L) pH 5,5 200rpm/30°C/12h



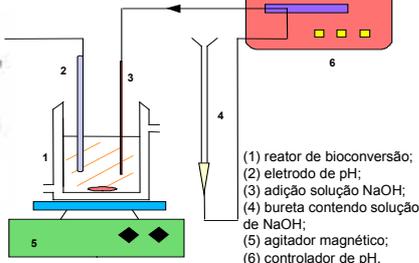
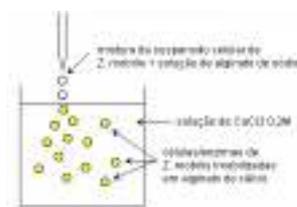
Permeabilização celular: CTAB (0,2% m/v) 4°C/10 min

Concentração celular: 6000rpm/15min

450rpm/ anaerobiose 30°C/12h

Imobilização celular: alginato de sódio 4% (m/v) + 10, 30, 50, 70 ou 100 g/L de suspensão celular

Ensaio de Bioconversão: 39°C/ pH 6,4 240mL (0,7M lactose+frutose) 10, 15, 20, 30 e 40 g/L de células imobilizadas



Metodologia analítica

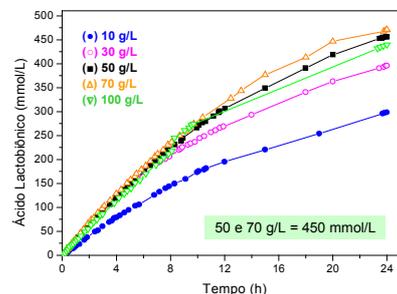
Processo fermentativo:

concentração celular (g/L), de açúcares redutores (g/L); atividade conjunta do complexo GFOR/GL. GFOR/GL (U): massa (mmol) de ácido lactobiónico formado por hora (U/g).

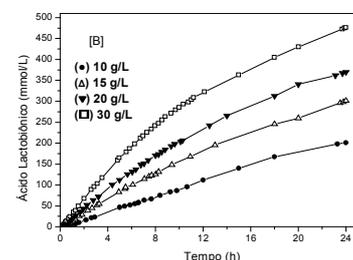
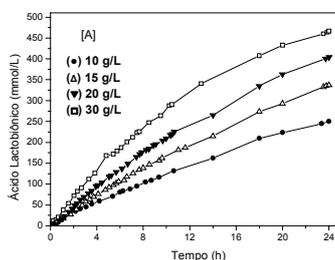
Bioconversão:

concentração de ácido lactobiónico (volume/concentração de base, em mmol/L); velocidade de formação de ácido lactobiónico (v_{max} - volume de NaOH usado no controle do pH da reação, avaliada nas primeiras horas de bioconversão, em mmol/L/h).

Resultados



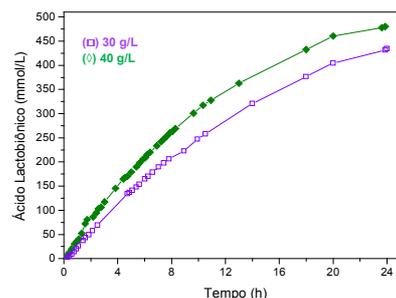
Concentração de ácido lactobiónico em função do tempo em processo de bioconversão com células de *Zymomonas mobilis* imobilizadas em suspensões entre 10 e 100 g/L. Substrato inicial = 0,7 mol/L; concentração do biocatalisador = 20 g/L; pH 6,4; 39°C.



Concentração de ácido lactobiónico em função do tempo em processo de bioconversão utilizando diferentes concentrações de biocatalisador, realizado com células de *Zymomonas mobilis* imobilizadas em suspensões a 50 g/L [A] e 70 g/L [B]. Substrato inicial = 0,7 mol/L; pH 6,4; 39°C.

Máxima velocidade inicial de formação de ácido lactobiónico (v_{max}) em processo de bioconversão, utilizando concentrações celulares entre 10 e 30 g/L, com células imobilizadas a partir de suspensões com concentrações de 50 e 70 g/L.

Concentração celular no meio de bioconversão (g/L)	v_{max} (mmol/L/h)	
	Imobilização com 50 g de células/L	Imobilização com 70 g de células/L
10	10,7	17,0
15	18,3	20,2
20	26,3	26,2
30	35,8	34,8



Concentração de ácido lactobiónico em função do tempo em processo de bioconversão com células de *Zymomonas mobilis* imobilizadas a 70 g/L, com diferentes concentrações de biocatalisador. Substrato inicial = 0,7 mol/L; pH 6,4; 39°C.

Conclusões

Os resultados obtidos neste trabalho indicam ser possível aumentar a produtividade do processo com o uso de concentrações ainda mais altas de biocatalisador na reação. Para isto, entretanto, é necessária a definição de uma configuração de biorreator que comporte um maior volume de células de *Zymomonas mobilis*. Estes dados reforçam a expectativa de aplicação industrial da produção de ácido lactobiónico e sorbitol pelo complexo GFOR/GL presente em células imobilizadas de *Z. mobilis*.

Referências Bibliográficas

- Cao, L. (2005). *Curr. Opin. Chem. Biol.* 9:217-226.
 Jonas, R.; Silveira, M.M. (2004) *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 18:321-336
 Mateo, C.; Palomo, J.M.; Lorente G.F.; Guisan J.M.; Lafuente R.F. (2007). *Enzyme Microbial Technol.* 40:1451-1463.
 Zanin, G.M. & Moraes, F. F. (2004). Eds.Said, S. e Pietro, R.C.L.R. *Legis Summa*, Ribeirao Preto, São Paulo, Brasil, p.35-85.
 Yu, R.; Van Scott, E. (2004). *J. Cosm. Dermatol.* 3:76-87.

Apoio

