

ISABEL GARDENAL  
bel@unicamp.br

**A** engenheira de alimentos Rosana Goldbeck conseguiu identificar, em sua tese de doutorado, microrganismos silvestres isolados de frutos do Cerrado, entre os quais os *Acremonium strictum*, que sinalizam um potencial para o desenvolvimento de celulases (enzimas) empregadas na produção de álcool de segunda geração, que é o bioetanol produzido a partir de diversas fontes de biomassa vegetal, preferencialmente para matérias-primas não destinadas ao consumo humano. “Em cinco anos o país será um dos maiores produtores de etanol de segunda geração, o ‘álcool verde’”, calcula a pesquisadora. “Esta seria uma produção mais acessível e viável por empregar subprodutos agroindustriais.”

As enzimas estudadas são capazes de degradar a celulose (um polímero) em glicose, que poderá ser posteriormente convertida em etanol, mostra Rosana, que teve seu trabalho financiado pela Fapesp. Foram achados esses microrganismos novos produtores de enzimas de interesse industrial até então pouco conhecidos.

Segundo ela, os microrganismos mais adotados para a produção de álcool combustível e de bebidas como a cerveja hoje, as *Saccharomyces*, não conseguem fazer a conversão de celulose diretamente em etanol. Precisam de enzimas que degradem a celulose em glicose para que entre no metabolismo do microrganismo e consiga transformá-lo em álcool.

Estão sendo investigados microrganismos geneticamente modificados para conter os genes dessas enzimas, para depois os mesmos genes serem inseridos nas *Saccharomyces*.

Esse processo, situa a autora, é bastante recente. “É uma inovação trabalhar com microrganismos engenharados (geneticamente modificados) a partir dos genes isolados e sequenciados de *Acremonium strictum*, cujo objetivo é fazer a sacarificação e fermentação simultaneamente – degradar a celulose em glicose e depois convertê-la em etanol.”

Se o microrganismo conseguir fazer essas etapas simultaneamente, isso poderá diminuir o gasto de enzimas na hidrólise, deixando o etanol economicamente viável e com um preço mais competitivo.

No caso da engenheira de alimentos, ela trabalhou com a produção de celulases visando especificamente à produção de bioetanol. Defendeu a sua tese na Faculdade de Engenharia de Alimentos (FEA) sob a orientação do docente Francisco Maugeri Filho, responsável pela linha de pesquisa de Engenharia de Bioprocessos, e coordenada pelo docente do Instituto de Biologia (IB) Gonçalo Amarante Guimarães Pereira.

As celulases, explica a doutoranda, são uma classe de enzimas ou proteínas que têm o poder de degradar a lignocelulose. A ideia é usar a biomassa de resíduos como o bagaço da cana-de-açúcar, milho, gramíneas e material verde (ricos em celulose) para transformar em glicose.

## BANCO DE CEPAS

A autora da tese partiu de uma coleção de 390 cepas de leveduras pertencentes ao Laboratório de Engenharia Bioquímica da FEA. Selecionou as melhores cepas produtoras de celulase em função de bancos originários da Floresta Amazônica, Mata Atlântica, Cerrado e Pantanal.

Na primeira seleção, foram obtidas cinco leveduras e analisou-se a atividade enzimática delas. Notou-se que uma delas se destacou pelo potencial na produção de celulases – a cepa AAJ6.

“Resolvemos identificá-la molecularmente para verificar o seu gênero e a sua espécie. Descobrimos que era o fungo leveduriforme *Acremonium strictum* e começamos a trabalhar com ele fazendo a produção das enzimas, purificação e estudos enzimáticos”, descreve a engenheira de alimentos.

Após a identificação dos genes das enzimas, ela clonou-os em *Escherichia coli* (*E.coli*), um microrganismo-modelo, e fez a transformação em *Saccharomyces cerevisiae* para depois degradar a celulose e fermentá-la convertendo-a em combustível.

A grande revelação, conforme Rosana, foi que ele produziu duas enzimas diferentes e primordiais na degradação da biomassa lignocelulósica – a endoglucanase e a beta-glicosidase.

A doutoranda constatou que a sua tarefa não tinha sido em vão. Além de de-

# Um ensaio para o ‘álcool verde’

## Microrganismos silvestres podem ser usados na produção do etanol de segunda geração



A engenheira de alimentos Rosana Goldbeck: “Produção mais acessível e viável por empregar subprodutos agroindustriais”



tear um microrganismo silvestre pouco estudado na natureza, também identificou os seus genes, iniciativa que representou um grande avanço, pois não se sabia que tal microrganismo podia produzir as enzimas descobertas. Viu que podia.

De acordo com a pesquisadora, lamentavelmente até o momento não se produziu o etanol de segunda geração, para onde estão sendo consumidos os esforços atualmente, e sim as enzimas que visam ao seu desenvolvimento, a partir de resíduos verdes.

De outra via, esse etanol não vem para competir com o etanol de primeira produção, que é o obtido de cana-de-açúcar ou o de milho. Vem, antes, em sua visão, para expandir o bioetanol mundial, pelo fato de usar os rejeitos que sobram nesse processo, realça ela.

Da cana-de-açúcar, por exemplo, vão sobrar bagaço e palha. Muitos desses resíduos são queimados e desperdiçados. “Prendemos convertê-los em etanol, pois esse resíduo é rico em celulose, o principal carboidrato”, relata.

## PERSPECTIVAS

Os Estados Unidos mantêm a sua liderança em etanol com produção a partir de milho. O Brasil figura logo atrás. É o segundo maior produtor mundial de etanol, porém aquele obtido de cana-de-açúcar.

A produção brasileira corresponde a 34% da faixa mundial e, a dos EUA, a 50%, com o restante dividido entre outros países. “Exploraremos essa produção a fim de não mais depender dos combustíveis fósseis, petróleo, para empregar só os combustíveis renováveis como o bioetanol”, diz Rosana.

É fato que as enzimas avaliadas mostraram-se valiosas à degradação de biomassa para ser usada num futuro próximo na produção de bioetanol. Mas ela sempre neces-

sita de um pré-tratamento, uma vez que a celulose não está acessível para que os microrganismos ataquem e assim se convertida em álcool.

As celulases podem ser aplicadas em indústrias como as de detergentes, panificação, bebidas, clareamento de sucos, papel e produção de rações. Mas, dessas, nada se iguala à produção de biocombustíveis.

Rosana avalia que o etanol de primeira geração, que é produzido a partir da saccharose de cana-de-açúcar, é viável, está bem no mercado competitivo e é exportado com boa aceitação. “A nossa intenção é expandir essa produção para chegar ao ‘álcool verde’, gerado por meio de material lignocelulósico”, reporta. Trata-se de resíduos verdes naturais. E é para isso que estão sendo desenvolvidas as novas tecnologias.

Campinas tem inclusive um Centro de Ciência e Tecnologia do Bioetanol (CTBE), dentro do Centro Nacional de Pesquisa em Materiais e Energias, situado próximo ao Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS). Nesse laboratório somente são investigadas áreas relacionadas à produção de bioetanol de segunda geração.

O Brasil está avançado nesse aspecto, embora ainda sem um etanol de segunda geração economicamente viável, porque ainda está com preço elevado, encarecido pelo custo das enzimas. Duas empresas multinacionais fazem a sua produção: a Novozyme e a Megazyme, que as vendem já purificadas.

A sua esperança, e a de experts da área, é mesmo colocar em uso o combustível verde. Muitas empresas almejam lançar o etanol de segunda geração em no máximo em um ano. Mas a expectativa de se tornar economicamente viável deve demorar um pouco mais: perto de cinco anos para então entrar em larga escala. Até aqui só há plantas pilotos e ensaios.

Além disso, já se fala de etanol de terceira e de quarta geração, que é a produção de álcool a partir de microrganismos geneticamente modificados. Como já existem essas enzimas, das quais já se conseguiu engenhar as leveduras, elas podem degradar celulose e convertê-la em álcool diretamente.

No estudo de Rosana, a identificação dos genes e a clonagem foram realizadas na Universidade Autônoma de Barcelona, na Espanha, onde a doutoranda permaneceu seis meses fazendo um estágio de doutorado-sanduíche, sob a orientação do professor Paul Ferrer.

Ao voltar ao Brasil, ela realizou outra parte da pesquisa no Laboratório de Genômica e Expressão do IB, supervisionada pelo professor Gonçalo, que incluiu a clonagem dos genes, a sua identificação e a transformação em *Saccharomyces*.

## Publicações

Goldbeck, R.; Andrade, C. C. P.; Pereira, G.A.G. ; Maugeri Filho, F. Screening and identification of cellulase producing yeast-like microorganisms from Brazilian biomes. *African J. Biotechnol.* 11(53): 11595-603, 2012.

Tese: “Determinação das propriedades lignocelulolíticas e estudo genético de microrganismos silvestres isolados de diversas regiões brasileiras visando à produção de bioetanol”

Autora: Rosana Goldbeck

Orientador: Francisco Maugeri Filho

Coorientador: Gonçalo Amarante Guimarães Pereira (IB)

Unidade: Faculdade de Engenharia de Alimentos (FEA)

Financiamento: Fapesp