

Estabelecimento de processo produtivo de ácido xilônico por linhagens recombinantes de *Komagataella phaffii*

Esselin, I. Y. C.¹, Pacheco, T. F.², Andrade, T. M. G.³, Duarte, L. T.⁴, Almeida, J. R. M.⁵

^{1,3} Universidade de Brasília, ^{2,4,5} Embrapa Agroenergia

¹ isadorayano17@gmail.com

Resumo: O ácido xilônico (AX) é um composto orgânico com aplicações promissoras nas indústrias farmacêutica, química e têxtil. Ele pode ser produzido a partir da oxidação da xilose, presente na fração hemicelulósica dos materiais lignocelulósicos, pela ação da enzima xilose desidrogenase (XDH). A levedura *Komagataella phaffii* tem sido amplamente utilizada na produção de compostos químicos valiosos e na expressão de proteínas heterólogas. Previamente, linhagens recombinantes de *K. phaffii* capazes de produzir AX foram obtidas pela expressão de genes bacterianos codificadores da XDH. Apesar das linhagens produzirem AX com bom rendimento em meio sintético, o desempenho em hidrolisado necessita ser melhorado. Este trabalho teve como objetivo estabelecer condições fermentativas adequadas para a produção de AX em hidrolisado hemicelulósico. Foram avaliados quatro parâmetros principais: concentração de substrato: xilose (20, 40, 80 e 120 g/L), pH (3,5; 4,5; 5,5 e 6,5), concentração inicial de biomassa celular (0,5; 1,5; 3,0; 5,0 e 10,0 g/L), temperatura de cultivo (26, 28, 30 e 32 °C) e oxigênio dissolvido (1, 10 e 20%). As fermentações foram conduzidas em frascos agitados e em biorreatores de bancada, e a produção de AX e o consumo de açúcares foram quantificados por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). Parâmetros cinéticos, como rendimento e produtividade foram determinados. Os resultados obtidos demonstraram a melhor produção de AX em: 40 g/L de xilose; pH 5,5; temperatura a 30 °C; biomassa celular de 5,0 g/L e oxigênio dissolvido de 10%. Nessas condições, observaram-se maiores valores de concentração de AX, consumo de substrato e rendimento (g de AX/g de xilose). Altas concentrações de xilose (80 e 120 g/L) prejudicaram o consumo do açúcar, possivelmente por efeitos de repressão na expressão de transportadores de açúcar. Em pH 5,5, o desempenho foi superior, o que pode ser explicado pela menor exigência energética para manutenção da homeostase celular. A concentração de biomassa celular mais elevada favoreceu a conversão da xilose, refletindo em maior produtividade. A temperatura de 30 °C permitiu uma conversão mais eficiente. Por sua vez, o oxigênio dissolvido de 10% proporcionou melhor rendimento e conversão da xilose em relação ao cultivo a 1%. Em condição de baixa oxigenação, as células não possuem oxigênio suficiente para o metabolismo, resultando em baixa produção de AX. Os parâmetros adequados ao cultivo de *K. phaffii* para a produção de AX a partir de fontes renováveis estão sendo definidos. As próximas etapas

envolvem o estudo do efeito da taxa de diluição e a realização de cultivos em hidrolisado lignocelulósico, dentro das condições estabelecidas como mais promissoras.

Palavras-chave: Ácido orgânico; Xilose; Bioprocessos; Levedura.

GU, Xiaoli et al. Kinetic modeling of xylonic acid production by *Gluconobacter oxydans*: effects of hydrodynamic conditions. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 46, p. 829-837, 2023. DOI: 10.1007/s00449-023-02865-6

RAMOS, Talita GS et al. Xylonic acid production by recombinant *Komagataella phaffii* strains engineered with newly identified xylose dehydrogenases. **Bioresource Technology Reports**, v. 16, p. 100825, 2021. DOI: 10.1016/j.biteb.2021.100825

TOIVARI, Mervi et al. Metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae* for bioconversion of D-xylose to D-xylonate. **Metabolic Engineering**, v. 14, n. 4, p. 427- 436, 2012. DOI: 10.1016/j.ymben.2012.03.002