Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"
Departamento de genética
Disciplina LGN0232- Genética Molecular

O Papel da Engenharia Genética na Obtenção de Energia Renovável

Estagiário PAE:Andressa M. Venturini

ANTONIO MARQUES

MURIEL PANOSSO

JORDI VERNOOY

PAULO H. CENEVIVA

Piracicaba

2016

INTRODUÇÃO

O monopólio na produção de energia utilizando combustíveis fósseis (carvão, petróleo, e gás) se estende desde o século 20 até os dias de hoje, representando 80% de toda energia produzida no mundo. Neste cenário, a energia vinda de biomassa representa somente 10% da produção de energia. Porém, segundo estudos, a biomassa no final do século 21 passará a ter maior importância, representando de 10 a 20% da energia consumida no mundo. Nos dias atuais, os métodos de obtenção de biomassa são diversos, englobando gaseificação, métodos de produção de calor e eletricidade, recuperação de energia de resíduos sólidos urbanos e gás de aterros sanitários além dos biocombustíveis para o setor de transportes (etanol e biodiesel).

No setor de transportes existe grande preocupação com o futuro dos combustíveis derivados de petróleo, uma vez que este está se tornando escasso no planeta. Este fato fez com que os olhares se voltassem para os biocombustíveis, os quais representam a melhor opção de utilização da biomassa. De todas opções, aquela que tem maior sucesso comercial no setor de transportes é o etanol derivado da cana-de-açúcar. O etanol, além de ser a principal solução para os problemas envolvendo combustíveis automotivos, recebe grande apoio de políticas governamentais em vários países inclusive no Brasil, em que 40% dos carros são abastecidos com etanol.

Há outros tipos de combustíveis derivados de processos metabólicos de bactérias e outros seres vivos que podem receber aplicação para combustíveis, exemplo é o butanol.

Tanto o etanol, quanto o butanol são produzidos por bactérias. Os estudos nesta área giram em torno de encontrar, através de melhoramento genético, uma melhor e maior produção de combustíveis.

REVISÃO DE LITERATURA

A principal bactéria utilizada na produção de etanol é a E. coli, ela é capaz que quebrar tanto hexoses e pentoses, excelentes para a engenharia de produção de biocombustível, porém, estas bactérias produzem uma pequena porção de etanol durante a fermentação. A solução encontrada para este problema foi a inserção de genes exógenos que passaram a eliminar vias competitivas, interrupção de produção de subprodutos e aumentando consideravelmente a produção de etanol. O gene exógeno utilizado foi Z. mobilis, este gene codifica o piruvato-descarboxilase e álcool desidrogenase que inibem a fumarato redutase (JANG et al., 2012; HUFFER et al., 2012). Desta

forma, a E. coli K011 (agora chamada), foi capaz de produzir 95% de etanol de um meio complexo.

O gene exógeno foi adicionado na bactéria E. coli através dos procedimentos seguintes: retirada de um vetor de clonagem da bactéria Z. mobilis; introdução de uma enzima de restrição na bactéria E. coli e por fim o vetor de clonagem adicionado também na bactéria E. coli, formando assim o DNA recombinante que irá transcrever o gene desejado.

Diversos microrganismos têm sido estudados e avaliados de acordo com suas capacidades e aptidões naturais no que concerne a geração de moléculas combustíveis, como é o caso de bactérias do gênero Clostridium que são produtoras naturais de butanol (um álcool de cadeia mais longa que facilmente poderia ser substituído por gasolina), porém com produção limitada. Esse obstáculo poderia ser facilmente solucionado inserindo sua via de produção, isso é, a transferência do trecho genômico responsável pela produção de butanol para organismos que se desenvolvem com maior velocidade como por exemplo a E. Coli.

Segundo Neves (et. al. 2016); em seu trabalho de como o biobutanol vem sendo algo promissor ao Brasil e como os microorganismos, citados em Natalaense (2013), a *Escherichia coli* vem sendo estudada em larga escala por possuir um crescimento muito acelerado e ser bastante conhecida em termos de modificações genéticas, entretanto existem alguns desafios em relação ao seu uso, por exemplo possuir limitações a conversão de alguns tipos de açúcares encontrados juntamente com a glicose. Em vista disso pode-se afirmar que é uma boa opção a introdução da via de produção de bactérias do gênero Clostridium em *Escherichia coli*.

Esse mesmo artigo cita, Cascone (2009) que descreve algumas rotas de processos para a obtenção de biobutanol, são elas: processos alcooquímicos, termoquímicos e fermentativo . No fermentativo ocorre a conversão de açúcares em acetona e butanol , o que é feito por bactérias, já no processo alcooquímico o butanol deriva da condensação do etanol (que é obtido pela fermentação tradicional), no processo termoquímico o butanol é obtido por pirólise e gaseificação de biomassa . O processo fermentativo divide-se em duas fases distintas ; a acidogênese em que são produzidos os ácidos, e a solvento gênese, na qual os ácidos são assimilados e os solventes são produzidos (cetona e butanol) . As bactérias convencionais não toleram concentrações de butanol maiores que 20g/L limitando muito a produção .

A grande vantagem das bactérias do gênero Clostridium está em metabolizar diferentes fontes de carbono, como por exemplo: hexoses, pentoses e fontes de amido; sem a necessidade de

hidrólise de polímeros, entretanto essas bactérias não toleram elevadas concentrações de butanol no meio, o que vem sendo um grande desafio para a genética molecular, utilizando ferramentas e técnicas de DNA recombinante e mutagênese buscando melhor eficiência da bactéria no processo fermentativo.

O butanol é um subproduto de muito interesse no cenário atual, pois possui características bem próximas a gasolina, por possuir cadeia carbônica longa e substituir, sustentavelmente combustíveis fósseis que causam maiores danos ao meio ambiente. Comparando esse biocombustível com o etanol pode-se observar muita vantagem, por possuir maior conteúdo energético, é menos corrosivo que o etanol, possui maior solubilidade tanto na gasolina quanto em outros combustíveis em comparação com o etanol e possui menor pressão de vapor que o etanol, sendo assim mais seguro para o manuseio e a estocagem. Bactérias do gênero clostridium possuem grande potencial para a produção desse combustível .

No seguinte, será analisado a obtenção de biobutanol pelo processo fermentativo (que conta com o auxílio da engenharia genética para a obtenção de bactérias eficientes para esse fim) que é a rota mais viável para o desenvolvimento desse biocombustível a curto prazo.

DISCUSSÃO

Quanto a produção do butanol a partir de bactérias, esta encontra-se ainda em estágios muito incipientes de sua devida produção para fins comerciais e apesar de todos os resultados positivos observados nos experimentos e sua aplicação causar um aumento da produtividade quando difundida nos atuais combustíveis comparativamente ao etanol, as pesquisas ainda não recebem tanto amparo governamental e da indústria. Exemplo é de pesquisador Rubens Maciel Filho que desenvolveu pesquisas a respeito da obtenção de butanol à vácuo, mas devido a falta de amparo e suporte para condução de seus experimentos, transferiu seus estudos para Ohio nos Estados Unidos.

Atualmente a produção de etanol diretamente dos produtos lignocelulósicos ainda está em fase inicial de estudos, portanto ainda é necessário todo um gasto energético e consequentemente monetário com a biomassa pré-existente para se produzir o etanol. Com a engenharia genética aplicada, diversos processos da cadeia produtiva seriam cortados, fazendo com que a produção do etanol fosse muito mais rápida, eficiente e produtiva. Claro tudo isso, sendo algo diretamente relacionado ao meio que as bactérias estarão inseridas para a devida produção desses produtos,

pois de acordo com os artigos analisados, essas bactérias tem necessidades específicas para uma boa produção e a obtenção das condições ideais e favoráveis nem sempre é tão simples e barata.

É de se refletir também se a destinação de áreas agricultáveis exclusivamente para plantas que demonstraram potencialidades quanto a produção bioenergética, não acarretará problemas no sentido de ocupação de área de culturas destinadas à alimentação humana direta ou indiretamente.

OBJETIVOS

Com a busca por uma fonte alternativa de bioenergia e de forma mais rentável, a procura por microrganismos com potencial para propor novas técnicas para melhoria da produção da bioenergia passou a ter maior importância. No caso do etanol, os microrganismos geneticamente modificados aos quais as pesquisa estão voltadas, são aqueles que possuem capacidade de digerir parede celular de material agrícola e transformá-los em açúcares fermentáveis. A engenharia genética neste aspecto tem grande importância, pois é a partir dela que foi possível obter os microrganismos hoje vigentes. Nos exemplos citados acima, a bactéria E. coli na produção de etanol e a bactéria do gênero clostridium na produção do butanol, são resultados dos avanços que a área vem alcançando, pois através dela foi possível a inserção de genes exógenos, vindos de outras bactérias, em seu genoma e desta forma melhorando seu rendimento na produção dos biocombustíveis .

Os avanços tecnológicos ligados a esta área trarão futuramente para o mercado de combustíveis automotivos um produto que possui baixa taxa de degradação ambiental, tanto para sua produção (cana-de-açúcar) quanto em termos de poluição do meio ambientes através da liberação de gases de sua combustão. Além de ser um combustível menos poluente que os atuais, o butanol e etanol produzidos terão melhor qualidade e consequentemente melhor rendimento e custo para o consumidor.

METODOLOGIA

A bactéria E. coli K011 utilizada na produção do etanol, consiste em um microorganismo geneticamente modificado, que foi possível sua obtenção através da inserção e um gene exógeno em seu genoma. O gene utilizado é um gene provindo da bactéria Z. mobilis. O fragmento genético que carrega a característica desejada foi retirada do genoma da bactéria Z. mobilis e

transferida para o genoma da E. coli. Para se retirar o plasmídeo desejado foi utilizado uma enzima de restrição, que tem função de cortar um fragmento de DNA específico (após um par de bases específicas), desta forma o fragmento está livre para ser transferido para a bateria E. coli. Esta mesma enzima de restrição é colocada na bactéria E. coli para que ela faça o corte da fita de DNA em que o DNA recombinante irá se encaixar. Assim o plasmídeo retirado da Z. mobilis pode ser realocado na bactéria E. coli. Esta técnica é chamada de "técnica do DNA recombinante". O gene transferido para a bactéria E. coli possui um peso molecular de 1500 pares de bases. Este gene inserido na E. coli possibilitou produzir etanol com maior rendimento além de aumentar a tolerância ao etanol em um meio complexo. Porém, todas estas melhorias adquiridas na bactéria E. coli fez com a produção do etanol se tornasse mais cara.

REFERÊNCIAS:

http://revistapesquisa.fapesp.br/2011/06/22/novidade-na-producao-de-butanol/

Souza, G. M., Victoria, R., Joly, C., & Verdade, L. (Eds.). (2015). *Bioenergy & Sustainability: Bridging the gaps* (Vol. 72, p. 779). Paris: SCOPE. ISBN 978-2-9545557-0-6

Pereira E.L., Neves T.C. *PRODUÇÃO BIOTECNOLÓGICA DE BUTANOL.* DOI: http://dx.doi.org/10.5892/ruvrd.v14i2.312

Oliveira R.S., Batista R.D., *PERSPECTIVAS E SITUAÇÃO ATUAL DA PRODUÇÃO DE BIOCOMBUSTÍVEIS* v. 5, n. 1, p. 32-42, jan./jun. 2015

Goldemberg J., *Biomassa e energia. Quim. Nova, Vol. 32, No. 3, 582-587, 2009*

Mendes, T.C.D; Silva, M.V; Araújo, L.C.A; *ESTUDO DA DIVERSID ADE GENÉTICA DE LINHAGENS DE Zymomonas mobilis* Resumos Expandidos do I CONICBIO / II CONABIO / VI SIMCBIO (v.2) Universidade Católica de Pernambuco - Recife - PE - Brasil - 11 a 14 de novembro de 2013