IX SIMPÓSIO DE HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DE BIOMASSAS

Maringá, 23 a 27 de novembro, 2009



EDITORES:

Gisella Maria Zanin Marcelino Luiz Gimenes Flávio Faria de Moraes

PROMOÇÃO:



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA

SUMÁRIO

Boas Vindas / Welcome	03
Programa / Program	06
Atividades Programadas / Programed Activities	07
Conferências / Lectures	27
Apresentações Orais / Oral Presentations	36
Apresentações Pôster / Pôster Presentations	81

BOAS VINDAS

Queremos manifestar a nossa grande alegria em recebê-los neste "IX Simpósio de Hidrólise Enzimática de Biomassas" que mais uma vez estamos realizando.

Que a vossa permanência em Maringá seja agradável e proveitosa.

A Coordenação

PROGRAMAÇÃO TÉCNICA

O programa técnico inclui conferências (9) que serão proferidas por eminentes pesquisadores convidados e apresentação de trabalhos técnicos na forma oral (44) e pôsteres (111).

PROGRAMAÇÃO SOCIAL

A programação social inclui a realização de coquetel e jantares de confraternização (por adesão).

WELCOME

We would like to express our great pleasure in receiving you at the "IX Symposium on Enzymatic Hydrolysis of Biomass" that we now realize.

We wish that your stay in Maringá will be enjoyable and profitable.

The Organizing Committee

SCIENTIFIC PROGRAM

The Scientific Program includes lectures contributed by invited speakers (9) and technical papers to be presented in oral sessions (44) and poster sessions (111).

IX SIMPÓSIO DE HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DE BIOMASSAS

Maringá, 23 a 27 de novembro de 2009

LOCAL: Hotel Deville Av. Herval, 26

PROMOÇÃO: Universidade Estadual de Maringá/Centro de Tecnologia

Departamento de Engenharia Química

COMITÊ ORGANIZADOR:

Prof. Gisella Maria Zanin

Prof. Flávio Faria de Moraes

Prof. Marcelino Luiz Gimenes

Prof. Nehemias Curvelo Pereira

SECRETARIA:

Marilza S. K. Nery Robson G. da Silva Dorival J. Batista Sueleni M. Batista

ENDEREÇO:

Departamento de Engenharia Química Universidade Estadual de Maringá Av. Colombo, 5790 - Bloco E46 - Sala 09 87020-900 - Maringá - PR - Brasil

Phone: +55 44 3261 4745 Fax: +55 44 3261 4793 www.deq.uem.br

COORDENADORES:

Prof. Gisella Maria Zanin – gisella@deq.uem.br Prof. Flávio Faria de Moraes – <u>flavio@deq.uem.br</u>

e-mail: shebuem@gmail.com

COMISSÃO CIENTÍFICA:

- Dr. Adilson Gonçalves (EEL/USP)
- Dr. Alfredo E. Maiorano (IPT)
- Dr. Carlos Ricardo Soccol (DEQ/UFPR)
- Dr. Célia Regina G. Tavares (DEQ/FUEM)
- Dr. Cesar Costapinto Santana (FEQ/UNICAMP)
- Dr. Elba P. S. Bon (IQ/UFRJ)
- Dr. Heizir F. de Castro (EEL/USP)
- Dr. Jorge Luis Ninow (DEQ/UFSC)
- Dr. José D. Fontana (UFPR)
- Dr. José Eduardo Olivo (DEQ/FUEM)
- Dr. Luiz Pereira Ramos (DQI/UFPR)
- Dr. Maria Helena A. Santana (FEQ/UNICAMP)
- Dr. Nei Pereira Jr (EQ/UFRJ)
- Dr. Raquel Camargo L Giordano (DEQ/UFSCar)
- Dr. Roberto de Campos Giordano (DEQ/UFSCar)
- Dr. Willibaldo Schmidell Netto (EPUSP)

APOIO:

Expressamos nossos profundos agradecimentos ao Departamento de Engenharia Química, ao Programa de Pós-Graduação, aos órgãos internos da UEM, às Agências Financiadoras e às Empresas pelo auxílio prestado, sem o qual não poderíamos viabilizar a realização deste evento.

CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico Fundação Araucária, PR Hotel Deville

Comissão Organizadora

PROGRAMA

Nov. 23, 2009 Nov. 24, 2009		Nov. 25, 2009	Nov. 26, 2009	Nov. 27, 2009	
SEGUNDA-FEIRA	TERÇA-FEIRA	QUARTA-FEIRA	QUINTA-FEIRA	SEXTA-FEIRA	
9h – preparação das	8h30min – Sessão	8h30min – Sessão	8h30min – Sessão	8h30min – Sessão	
salas no Hotel	Técnica I: "Seleção	Técnica V:	Técnica VIII:	Técnica XI:	
	de Microrganismos	"Sacarificação de	"Processos	"Produção de	
	Produtores de	Lignocelulósicos"	Fermentativos"	Etanol"	
	Enzimas Industriais"	Apresentação de		Conferência VII	
	Apresentação de	Trabalhos	Apresentação de	Conferência VIII	
	Trabalhos	Oral (15 - 19)	Trabalhos		
	Oral (1 - 6)		Oral (31 – 33)		
	10h30min – Café	10h10min – Café	10h10min – Café	9h50min – Café	
	10h50min – Sessão	10h30min – Sessão	10h30min - Sessão	10h10min – Sessão	
	Técnica II:	Técnica V:		Técnica XII:	
	Biorrefinaria Virtual	Continuação	Continuação	"Purificação de	
	Conferência I	Apresentação de		Bioprodutos"	
		Trabalhos	Apresentação de	Apresentação de	
	11h30min – Sessão	Oral (20 - 22)	Trabalhos Oral (34)	Trabalhos	
	de Pôster I – Pôsteres	11h30min – Sessão	11h30min – Sessão	Oral (41 – 44)	
	1 a 47 (pares)	de Pôster III –	de Pôster V –	11h30min – Sessão	
		Pôsteres 48 a 77	Pôsteres 78 a 111	de Encerramento do	
10h Almana	12h20min Almana	(pares)	(pares)	IX SHEB	
12h – Almoço	12h30min – Almoço	12h30min – Almoço	12h30min – Almoço	12h30min – Almoço	
15h30min - 17h -	14h – Sessão Técnica	14h – Sessão Técnica	14h – Sessão Técnica	14h – Reuniões para	
Inscrição.	III: "Pré-tratamento	VI:	IX: Aplicações em	discussão de	
Fixação dos pôsteres	de Lignocelulósicos"	"Biotransformação	Tratamento de	possíveis parcerias e	
	Conferência II	de Óleos e Gorduras"	Efluentes"	formação de redes	
	Apresentação de	Apresentação de	Apresentação de		
	Trabalhos	Trabalhos	Trabalhos	A critério de	
	Oral (7 - 10)	Oral (22 - 27)	Oral (35 - 37)	interessados	
			Conferência VI		
	16h – Café	15h40min – Café	15h40min – Café		
	16h20min – Sessão	16h – Sessão Técnica	16h – Sessão Técnica		
	Técnica IV:	VII: "Biocatálise"	X: "Fermentação"		
	"Fermentação de	Conferência III	Apresentação de		
	Lignocelulósicos	Apresentação de	Trabalhos		
	Apresentação de	Trabalhos	Oral (38 - 40)		
	Trabalhos	Oral (28 - 30)	0141 (80 10)		
	Oral (11 - 14)	1=1 10 1 m n			
	17h40min – Sessão	17h40min – Sessão	17hmin – Sessão de		
	de Pôster II –	de Pôster IV –	Pôster VI – Pôsteres		
	Pôsteres 1 a 47	Pôsteres 48 a 77	78 a 111 (ímpares)		
	(ímpares)	(ímpares)	101-20:		
	19h – Encerramento	19h – –	18h20min – –	•	
	das atividades do dia	Encerramento das atividades do dia	Encerramento das atividades do dia		
10h Incomição	20h30min - Jantar	20h30min – Jantar	20h30min - Jantar	20h30min – Jantar	
19h – Inscrição 19h30min – Sessão	Restaurante Aldo	Restaurante Monte			
de Abertura	(por adesão)	Líbano Monte	Deville Hotel	Portuguesa Casa	
20h30min –	(por aucsau)	(por adesão)	(por adesão)	(por adesão)	
Conferência de		(por aucsau)	(por aucsau)	(por aucsao)	
Abertura					
21h30min –					
Coquetel					
Coqueter	l .				

IX SIMPÓSIO DE HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DE BIOMASSAS Maringá, 23 a 27 de novembro de 2009

ATIVIDADES PROGRAMADAS

PROGRAMMED ACTIVITIES

Segunda-feira, 23 de novembro

15h30min – 17h – Inscrição e montagem dos pôsteres nos locais indicados

19h - Inscrição

19h30min - Sessão de Abertura / Opening Session

20h30min - Conferência de Abertura: "Biocombustíveis de Segunda Geração Inseridos no Contexto de Biorrefinarias: Tendências e Desafios"
 Prof. Dr. Nei Pereira Jr, Departamento de Engenharia Bioquímica, Escola de Química – UFRJ, Rio de Janeiro-RJ

21h30min - Coquetel de Boas Vindas / Welcome Reception

Terça-feira, Manhã, novembro 24

8h30min - Sessão I - "Seleção de Microorganismos Produtores de Enzimas Industriais"

Coordenador: Prof^a. Graciette Matioli – UEM **Coordenador:** Prof^a. Rosane Marina Peralta – UEM

Oral 01: "Improvement of the thermostability of *Orpinomyces* sp. PC-2 xylanase by directed evolution"

Larissa M. Trevizano, Rafaela Z. Ventorim, Valéria M. Guimarães - UFV

8h45min - Discussão

8h50min - **Oral 02:** "Avaliação da evolução direcionada no desempenho da linhagem Pichia stipitis na fermentação alcoólica de hidrolisados hemicelulósicos de bagaço de cana"

Felipe P. Oliveira, Ludmylla B. R. de Souza, Gabriel J. V. Betancur, Nei Pereira Jr - UFRJ

9h05min - Discussão

9h10min - **Oral 03:** "Expressão heteróloga de celobiohidrolase (GH7) de *Aspergillus niveus* em *Aspergillus nidulans*"

André R. L. Damásio, Fernando Segato, Rolf A. Prade, Maria L. T. M. Polizeli – FMRP/USP

9h25min - Discussão

9h30min - Oral 04: "Produção de xilanases e celulases pelo fungo termofílico Humicola grisea var. Thermoidea em diferentes substratos"
 Guilhermar R. de Melo, Wagner R. de Carvalho, Gisele S. de Oliveira, Syd P. de Faria, Fabrícia P. de Faria - UFG

9h45min - Discussão

9h50min - **Oral 05:** "Fatores que influenciam na produção de lipase extracelular de *Rhizopus orvzae*"

Américo C. Júnior, Joel P. V. Júnior, **Sabrina M. V. Pacheco**, Agenor Furigo Junior - UFSC

10h05min - Discussão

10h10min - **Oral 06:** "Influência da temperatura na produção de lacases de *Basidiomicetos* crescidos em casca de laranja em sistema de cultivo semi-sólido"

Ana Maria Alexandrino, Paula G. Milani, Caroline A. V. de Araújo, **Giselle M. Maciel**, Rosane M. Peralta, Cristina G. M. de Souza - UEM

10h30min - Café

10h50min - Sessão II - "Biorrefinaria Virtual"

Coordenador: Prof. Nei Pereira Jr – UFRJ

Coordenador: Prof. Nehemias Curvelo Pereira – UEM

Conferência I: "Virtual Sugarcane Biorefininery (VSB): a tool to evaluate the sustainability of different technological alternatives"

Antonio Bonomi, Mirna I.G. Scandiffio, Marcelo P. Cunha, Charles D.F. Jesus, Marina O.S. Dias – CTBE

11h20min - Discussão

11h30min - Sessão Pôster I – Pôsteres 1 a 47 (pares)

Coordenadora: Prof. Gisella Maria Zanin – UEM A lista dos titulos dos Pôsteres é apresentada ao final.

12h30min - Almoço

Terça-feira, Tarde, novembro 24

14h - Sessão III – "Pré-tratamento de Lignocelulósicos"

Coordenador: Prof. Alfredo Eduardo Maiorano - IPT **Coordenador:** Prof. Flávio Faria de Moraes – UEM

Conferência II: "Approaches to improve biomass hydrolysis in sugar PLATFORM biorefineries"

Matti Siika-aho, Anne Kallioinen, Liisa Viikari, Jari Vehmaanperä, Markku Leskelä, Anu Koivula, Kristiina Kruus, Niklas von Weymarn – VTT, Finlandia

14h30min - Discussão

14h40min - **Oral 07:** "Technical and economical evaluation of biopulping trials performed at 50-ton pilot scale"

André Ferraz, Fernando Masarin, Elaine R. Kitazuru, Gina G. S. Cunha, Paulo C. Pavan – EEL/USP

14h55min - Discussion

15h - **Oral 08:** "Otimização da deslignificação do papelão para a produção de etanol por processo SSF"

Mariana Mello P. da Silva, Isadora D. M. Silva, Roberto N. Maeda, Neumara L. C. Silva, Nei Pereira Jr - UFRJ

15h15min - Discussão

15h20min - **Oral 09:** "Caracterização química da biomassa de cana-de-açúcar para avaliação de sua viabilidade à produção de bioetanol"

Danielle Szczerbowski, Ana Paula Pitarelo, Arion Zandoná Filho, Luiz Pereira Ramos – UFPR

15h35min - Discussão

15h40min - **Oral 10:** "Effect of ultrasound on the kinetics of filter paper hydrolysis with a cellulase/ β -Glucosidase / hemicellulase mixture"

Marcos H. L. Silveira, Larissa da Silva, Jürgen Andreaus – FURB

15h55min - Discussão

16h - Café

16h20min - Sessão IV - "Fermentação de Lignocelulósicos"

Coordenador: Prof. Jorge Luiz Ninow - UFSC **Coordenador:** Prof. Jürgen Andreaus - FURB

- **Oral 11** "Avaliação do potencial da biomassa residual da indústria de celulose para a produção de bioetanol"

Neumara Luci Conceição Silva, Gabriel Jaime V. Betancur, Nei Pereira Jr - UFRJ

16h35min - Discussão

16h40min - **Oral 12:** "Hidrólise enzimática de bagaço de cana-de-açúcar e fermentação por diferentes linhagens de levedura fermentadoras de pentose e hexose"

Davi L. Gonçalves, Adriane Mouro, Carlos A. Rosa, Bóris U. Stambuk - UFSC

16h55min - Discussão

Oral 13: "Avaliação de diferentes linhagens de Pichia stipitis na fermentação do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de malte"
 Daniely Garcia, Renata Alves de Brito, Inês Conceição Roberto - EEL

17h15min - Discussão

17h20min - **Oral 14:** "Avaliação da produção de etanol e xilitol por consórcios microbianos em meio semi-sintético"

Ana R. Cassales, Priscila Souza-Cruz, Marco A. Z. Ayub – UFRGS, Bento Gonçalves

17h35min - Discussão

17h40min - Sessão Pôster II – Pôsteres 1 a 47 (ímpares)

Coordenadora: Prof. Gisella Maria Zanin – UEM A lista dos titulos dos Pôsteres é apresentada ao final.

19h - Encerramento da Sessão de Pôster I e II

Terça-feira, noite, novembro 24

20h30min - Jantar – Restaurante Aldo (Cozinha Italiana) (por adesão)

Quarta-feira, Manhã, novembro 25

8h30min - Session V – "Sacarificação de Lignocelulósicos"

Coordenador: Prof. André Ferraz - EEL **Coordenador:** Prof. Jaime Finguerut - CTC

8h30min - **Oral 15:** "Otimização da hidrólise enzimática da biomassa residual da

indústria de celulose"

Neumara Luci Conceição Silva, Roberto Nobuyuki Maeda, Nei Pereira Jr - UFRJ

8h45min - Discussão

8h50min - **Oral 16:** "Studies on the hydrolysis of lignocellulosic residues and concomitant cellulase adsorption"

Jürgen Andreaus, Marcos H. L. Silveira, Larissa da Silva, Andrezza M. Pascoalin - FURB

9h05min - Discussão

9h10min - **Oral 17:** "Avaliação da susceptibilidade do bagaço de cana pré-tratado a vapor e hidrólise enzimática"

Ana Paula Pitarelo, Arion Zandoná Filho, Luiz Pereira Ramos - UFPR

9h25min - Discussão

9h30min - **Oral 18:** "Estudo de variáveis que influenciam o processo de sacarificação enzimática do bagaço da cana"

Liliane P. Andrade, Henrique M. Baudel, José Augusto T. R. Tomé, Célia M. A. Galvão – CTC, Piracicaba

9h45min - Discussão

9h50min - Oral 19: "Efeito de diferentes pré-tratamentos no rendimento da hidrólise enzimática de bagaço de cana-de-açúcar"

Rafael E. Martins, Guilherme S. de Moraes, Claudia R. Silva, Mary L. Faria - UFSCar

10h05min - Discussão

10h10min - Café

10h30min - Sessão V - "Sacarificação de Lignocelulósicos" - Continuação

Coordenador: Larissa Canilha - Novozymes

Coordenador: Angélica Marquetotti Salcedo Vieira - UEM

10h30min - **Oral 20:** "Hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado a vapor e/ou extração alcalina"

Ana Paula Pitarelo, Luiz A. Bortolli Jr., Luiz Pereira Ramos - UFPR

10h55min - Discussão

10h50min - Oral 21: "Comparação da eficiência de hidrólise enzimática de bagaço de cana pré-tratado para três formas de operação em batelada"
 Mirella Cappellazzo, Camila Garcia Baldin, Leticiaa de Souza Zarpellon, Gisella Maria Zanin, Flávio Faria de de Moraes - UEM

11h05min - Discussão

11h10min - **Oral 22:** "Enzymatic hydrolysis of wheat straw for bioethanol production using membrane reactors"

M. Céu Sàágua, Belina Ribeiro, Susana M. Paixão, Lina Baeta-Hall, Joana Pereira, Ana M. Anselmo, **José C. Duarte** – LNEG – Ubioenergia, Portugal

11h25min - Discussão

11h30min - Sessão Pôster III – Pôsteres 48 a 77 (pares)

Coordenadora: Prof. Gisella Maria Zanin – UEM A lista dos titulos dos Pôsteres é apresentada ao final.

12h30min - Almoço

Quarta-feira, Tarde, novembro 25

14h - Sessão VI – "Biotransformação de Óleos e Gorduras"

Coordenador: Prof. Pedro Augusto Arroyo - UEM **Coordenador:** Prof^a. Onelia Aparecida Andreo dos Santos – UEM

Oral 23 "Parâmetros reacionais para a síntese enzimática do laurato de

isopropila em meio isento de solvente orgânico"

Priscilla de Souza Santana, Monna Lisa Barreto Queiroz, Cláudio Dariva, Alini Tinoco Fricks, Álvaro Silva Lima, Gisella M. Zanin,

Cleide M. F. Soares - UNIT

14h15min - Discussão

14h20min - **Oral 24:** "Síntese enzimática de biodiesel sob irradiação de micro-ondas via etanólise do óleo de palma"

Patrícia C. M. Da Rós, Matheus B. A. Castro, Heizir F. de Castro - EEL

14h35min - Discussão

14h40min - **Oral 25:** "Ethanolysis of chicken fat from processing by-products catalyzed by NOVOZYM 435"

Maria M. C. Feltes, Gisanara Dors, Luiza L. Eberhardt, Anderson F. Santos, Agenor Furigo Jr., **Jorge Luiz Ninow** - UFSC

14h55min - Discussão

15h - **Oral 26:** "Degradação biotecnológica de glicerol oriundo da síntese de biodiesel por consórcio microbiano ambiental"

Daniele M. Rossi, Janaína B. da Costa, Maria do Carmo R. Peralba, Dimitrius Samios, Marco A. Z. Ayub – UFRS, Bento Gonçalves

15h15min - Discussão

15h20min - Oral 27: "Seleção de fonte de lipase para catalisar a síntese de biodiesel via etanólise do óleo de pinhão manso"

Lívia T. A. Souza, Aline S. Simões, Ana P. O. Costa, Heizir F. de Castro - EEL

15h35min - Discussão

15h40min - Café

16h - Sessão VII – "Biocatálise"

Coordenador: Prof^a Heizir Ferreira de Castro - EEL **Coordenador:** Prof^a Cleide Mara Faria Saores - UNIT

Conferência III "Imobilização orientada de enzimas versus estabilidade"
 Paulo Waldir Tardioli, Marcelo Fernandes Vieira, Angélica Marquetotti Salcedo Vieira, Cesar Mateo, Roberto Fernández-Lafuente, José Manuel Guisán - UFSCar

16h30min - Discussão

16h40min - **Oral 28:** "Conversão multizenzimática da sacarose em frutose e ácido glicônico usando reator descontínuo"

Aline Ramos da Silva, Ester Junko Tomotani, Michele Vitolo - USP

16h55min - Discussão

17h - **Oral 29:** "Imobilização da enzima ciclodextrina-glicosil-transferase em diferentes suportes sólidos"

Angélica Marquetotti Salcedo Vieira, Marcelo Fernandes Vieira, Paulo Waldir Tardioli, Gisella Maria Zanin, José Manuel Guisán -UEM

17h15min - Discussão

17h20min - Oral 30: "Alcoholysis of palm oil using immobilized lipase on hybrid

hydrogel chitosan-alginate chemically modified"

Adriano A. Mendes, Willian Kopp, Ariela V. Paula, Raquel de L. C. Giordano, Heizir F. de Castro - EEL

17h35min - Discussão

17h40min - Sessão de Pôster IV – Poster 48 a 77 (ímpares)

Coordenadora: Prof. Gisella Maria Zanin – UEM

19h - Encerramento da Sessão de Pôster

A lista dos titulos dos Pôsteres é apresentada ao final.

Quarta-feira, noite, novembro 25

20h30min - Jantar – Restaurante Monte Líbano (Cozinha Árabe) (por adesão)

Quinta-feira, Manhã, novembro 26

8h30min - Sessão VIII - "Processos Fermentativos"

Coordenador: Prof. Paulo Waldir Tardioli - UFSCar **Coordenador:** Prof. José Eduardo Olivo - UEM

Conferência IV: "Produção de enzimas por fermentação em estado sólido"

Daniel Ernesto Rodríguez-Fernández, **José Angel Rodríguez-León**, Julio Cesar de Carvalho, Carlos Ricardo Soccol - UFPR

9h - Discussão

9h10min - **Oral 31:** "Produção das enzimas invertase e protease em fermentação em estado sólido com *Aspergillus niger*"

Christiane P. Rocha, Ubirajara C. Filho, Vicelma L. Cardoso - UFU

9h25min - Discussão

9h30min - **Oral 32:** "Influência do pH em fermentação semi-sólida para a produção de enzimas celulolíticas"

E. S. Silva, A. E. Maiorano, R. Salomoni, M. F. A. Rodrigues - IPT

9h45min - Discussão

9h50min - **Oral 33:** "Uso de biomassas para a produção de ácido succínico por *Actinobacillus succinogenes*"

Elcio R. Borges, Ludmylla B. R. Souza, Nei Pereira Jr

10h05min - Discussão

10h10min - Café

10h30min - Sessão VIII - "Processos Fermentativos" - Continuação

Coordenador: Dr. Alfredo E. Maiorano - IPT Coordenador: Prof. José Eduardo Olivo - UEM

Conferência V: "Aplicação de enzimas comerciais no processo de fabricação de alcool de cana-de-açúcar"

Rafael De A. Borges, Débora Gasparino, Elisa Ravagnani, Daniella Valeri – PROZYN Indústria e Comércio Ltda., São Paulo

11h - Discussão

11h10min - Oral 34: "Estudo das condições de cultivo em fermentador de bancada para produção de glutationa"
 Lucielen O. dos Santos, Andréia Anschau, Ranulfo M. Alegre –

11h25min - Discussão

11h30min - Sessão Pôster IV - Pôsteres 78 a 110 (pares)

UFRRJ

Coordenadora: Prof. Gisella Maria Zanin – UEM A lista dos titulos dos Pôsteres é apresentada ao final.

12h30min - Almoço

Quinta-feira, Tarde, novembro 26

14h - Sessão IX – "Aplicações em Tratamento de Efluentes"

Coordenador: Prof^a Célia Regina Granhen Tavares - UEM **Coordenador:** Prof Marcelino Luiz Gimenes - UEM

Conferência VI: "New technologies for clean and recycle of urban waste water: submerged membranes and microalgae photoreactors"
 José Cardoso Duarte, Cristina Moreira Belina Ribeiro, Paula Gonçalves, Gorete Batista, Alain Grasmick – INETI, Lisboa

14h30min - Discussão

14h40min - **Oral 35:** "Uso de reator em coluna para degradação de antraceno com extrato enzimático bruto imobilizado"

Cátia T. dos Passos, Andrea Scamaral, Márcia de C. Orantas, Fátima Menezes Bento, Maria do C. R. Peralba, Flávio de A. O. Camargo - UFRGS

14h55min - Discussão

15h - **Oral 36:** "Descoloração de corantes sintéticos por *Pleurotus ostreatus* e sua atividade de lacase"

Leonel Vinícius Constantino, Fábio Rosnei da Silva, Eliane Saori Otaguiri , Suely Mayumi Obara Dói - UEL

15h15min - Discussão

15h20min - **Oral 37:** "Cinética e fisiologia da biodegradação de glifosato por consórcios microbianos"

Paola C. Tarouco, Priscila Souza-Cruz, Angela Machado, Marco A. Z. Ayub - UFRGS

15h35min - Discussão

15h40min - Café

16h - Sessão X – "Fermentação"

Coordenador: Prof. Jorge Luiz Ninow - UFSC **Coordenador:** Prof. Marco Ayub - UFRGS

 Oral 38: "Otimização da produção de lacase por Ganoderma lucidum em cultivos em estado sólido utilizando cascas de maracujá como substrato"

Adriana Zilly, Rosane Marina Peralta - UEM

16h15min - Discussão

16h20min - **Oral 39:** "Avaliação da atividade antioxidante de extratos do micélio de *Pycnoporus sanguineus*"

Josiane Borderes, **Alessandra Costa**, Alessandro Guedes, Lorena B. B. Tavares - FURB

16h35min - Discussão

16h40min - **Oral 40:** "Obtenção de parâmetros de modelo matemático para fermentação alcoólica em processo batelada a partir da farinha de raspa de mandioca"

André Luis Weiber Chaves, Wagner André dos Santos Conceição, **José Eduardo Olivo**, Cid Marcos Gonçalves Andrade - UEM

16h55min - Discussão

- Sessão Pôster V – Pôsteres 78 a 110 (ímpares)

Coordenadora: Prof. Gisella Maria Zanin – UEM A lista dos titulos dos Pôsteres é apresentada ao final.

18h30min - Encerramento da Sessão de Pôster

Quinta-feira, Noite, Novembro 26

20h30min - Jantar – Restaurante Hotel Deville (por adesão)

Sexta-feira, Manhã, novembro 27

8h30min - Sessão XI - "Produção de Bioetanol"

Coordenador: Prof. Flávio Faria de Moraes - UEM Coordenador: Prof. Nehemias Curvelo Pereira - UEM

Conferência VI: "Perspectivas da Produção de Etanol no Brasil" **Jaime Finguerut** – CTC, Piracicaba

9h - Discussão

9h10min - **Conferência VIII:** "Advanced in the cellulosic ethanol production"

Benjamin Raerup Knudsen; Larissa Canilha; Daniella dos Reis Garcia, Thiago Alessandre da Silva; Armindo Ribeiro Gaspar, Marie Linde - Novozymes

9h40min - Discussão

9h50min - Café

10h10min - Discussion

9h50min - Sessão XII - "Purificação de Bioprodutos"

Coordenador: Prof. Ernandes Benedito Pereira - UNIFAL

Coordenador: Profa Lorena B. B. Tavares - FURB

10h10min - Discussion

- **Oral 41:** "Fracionamento de surfactina em coluna de bolhas e espuma" **Rafael F. Perna,** Cesar C. Santana - UNICAMP

10h25min - Discussão

10h30min - **Oral 42:** "Utilização de membranas para reaproveitamento das enzimas celulolíticas após hidrolise enzimática"

Raul Alves de Oliveira, Rodrigo da R Olivieri de Barros, Angela Gava Barreto, Suely Pereira Freitas, Elba P. S. Bom - UFRJ

10h45min - Discussão

10h50min - **Oral 43:** "Purificação de lipase microbiana utilizando sistema aquoso bifásico PEG/fosfato"

José Murillo P. Barbosa, Ranyere L. de Souza, Alini Fricks, Roneval F. de Santana; Gisella M. Zanin; Álvaro S. Lima, Cleide M. F.Soares - UNIT

11h05min - Discussão

11h10min - **Oral 44:** "Estudo das condições de extração da glutationa produzida por *Candida tropicallis* CCT5846"

Andréia Anschau, Lucielen Oliveira dos Santos e Ranulfo Monte Alegre - UNICAMP

11h25min - Discussão

11h30min - Sessão de Encerramento do IX SHEB

Premiações dos Pôsteres

Sexta-feira, Tarde, novembro 27

Reuniões para disucssão de possíveis parcerias e formação de redes.
 Agendamento entre os interessados

Sexta-feira, Noite, novembro 27

20h30min - Jantar – Restaurante Casa Portuguesa (por adesão)

SESSÃO DE PÔSTER

O objetivo desta Sessão é promover uma discussão **informal** que pode ter início a partir de questionamentos vindos de alguém interessado, ou a partir de destaques ressaltados pelo próprio autor. Procure manter a apresentação na forma de conversação, evitando fazer palestra, ler resumos ou fixar sua atenção em uma só pessoa por um longo período de tempo. A intenção é discutir com o maior número possível de pessoas.

O autor deverá permanecer junto ao Pôster durante a maior parte das Sessões (24, 25 e 26/11). A permanência desejável é de um dos autores, principlamente nos horários designados na Programação.

Os Pôsteres deverão permanecer fixados durante todas as Sessões de Pôsteres, até a **sexta-feira**, **27 de novembro** sendo removidos até **as 8h30min**.

Fixe seu Pôster na segunda-feira 23/11 entre 15h30min e 19h30min, ou na terça-feira antes das 8h30min.

Se desejar concorrer à premiação dos melhores pôsteres, assinale-o com um dos marcadores fornecidos pela Secretaria do Evento. É desejável que ao menos um dos autores esteja presente quando a Comissão Avaliadora estiver analisando o trabalho.

POSTER SESSION

The purpose of this Session is to promote **informal** discussion. These discussions may begin with a question from an interested person, or you may initiate the discussion by pointing out a particular feature of your work and allowing questions and answers to evolve from that point. Keep your presentation conversational, rather than a lecture or reading a summary of your report.

Try not confine your attention to a single individual for an extended period of time. Instead, suggest additional discussions at the conclusion of the Session.

Be at your location during most of the poster session time.

Materials must remain posted during the entire Poster Session and until Friday, November 27, 8h30min.

Set up your Poster on November 23, from 15h30min to 19h30min or November 24, before 8h30min.

PÔSTERES / POSTER PRESENTATIONS

- Pôster 1 Aumento da produção de lacase pela diminuição da relação carbono/nitrogênio. Mateus Pasko dos Santos, Érica Clarissa D'Agostini, Juliana Silveira do Valle, Luzia Doretto Paccola-Meirelles, Nelson Barros Colauto, Giani Andrea Linde UNIPAR
- Pôster 2 Isolamento e seleção de bactérias de lodo industrial capazes de degradar glicerol para a produção de bioprodutos. Daniele M. Rossi, Janaína B. da Costa, Maria do Carmo R. Peralba, Dimitrius Samios, Marco A. Z. Ayub FURB
- Pôster 3 Produção de xilanase extracelular pelo fungo filamentoso *Aspergillus terreus*. Michele Sorgatto, Karina Justo Custódio Dias, Nelciele Cavalieri de Alencar Guimarães, Maria Rita Marques, Yvelise Maria Possiede, Fabiana F. Zanoelo, Giovana C. Giannes UFMS
- Pôster 4 Seleção de fungos filamentosos produtores das enzimas amilase, celulase e xilanase. Michele Sorgatto, Karina J. Dias; Nelciele C. de A. Guimarães, Camila de. A. Barbosa, Clarice R. Marchetti, Valdivia R. Morceli, Maria Rita Marques, Yvelise M. Possiede, Fabiana F. Zanoelo, Giovana C. Giannesi UFMS
- **Pôster 5** Produção de amilase por fungos filamentosos. **Pamela C. M. Pereira**, Izabela B. Oliveira, Giovana C. Giannesi, Fabiana F. Zanoelo UFMS
- **Pôster 6** Perfil enzimático e teor em fenólicos de diversos Basidiomicetos cultivados em casca de maracujá. **Adriana Zilly**, Cristina G. M. de Souza, Rosane Marina Peralta UEM
- **Pôster 7** Cellulases and hemicellulases from *Aspergillus japonicus, Penicillium citrinum* and *Penicillium chrysogenum* for sugar cane bagasse saccharification. **Costa, S. G.**, de Rezende, S. T., Mayrink, M. I. C. B., Pereira, O. L., Guimarães, V. M. UFV
- **Pôster 8** Utilização de susbtratos alternativos para a produção de xilanase pelo fungo filamentoso S3C1. **Andréa L. C. Oliveira,** Roberta V. Ramires, Giovana C. Giannesi, Fabiana F. Zanoelo UFMS
- Pôster 9 Cellulases and hemicellulases from endophytic Acremonium species.
 Maíra Nicolau Almeida, Dayelle Sâmila Pessotti de Oliveira Gonçalves,
 Brenda Rabello Camargo, Daniel Luciano Falkoski, Valéria Monteze
 Guimarães, Olinto Liparini Pereira, Sebastião Tavares de Rezende –
 UFV
- **Pôster 10** Caracterização enzimática da catecol 1,2 dioxigenase produzida por *Microbaterium oxydans EU373400.1*. **Cátia T. dos Passos**, Márcia de C. Orantas, Fátima Menezes Bento, Flávio A. de O. Camargo UFRGS
- Pôster 11 Determinação das variáveis que influenciam na atividade da fenol hidroxilase produzida por *Microbaterium oxydans EU373400.11*. Cátia
 T. dos Passos, Márcia de C. Orantas, Fátima Menezes Bento, Flávio A. de O. Camargo UFRGS

- Pôster 12 Cultivo de *Pichia pastoris* para a expressão constitutiva de α-amilase de *Bacillus subtilis*. Inti D.C. Montano, Carlos A.G. Suarez, Adilson J. da Silva, Antonio C. L. Horta, Fernando Araripe, Raquel L. C. Giordano, Roberto C. Giordano UFSCar
- Pôster 13 Produção das enzimas xilanase e β-glicosidase pelo fungo *Aspergillus awamori* em diferentes fontes de nitrogênio. **Raquel S. Paredes**, Leda M. F. Gottschalk, Elba P. S. Bon UFRJ
- Pôster 14 Seleção de leveduras silvestres com potencial para produção de celulases.
 Rosana Goldbeck, Abraão B. Peixoto, Francisco Maugeri Filho UNICAMP
- Pôster 15 Comportamento das enzimas xilose redutase e xilitol desidrogenase de Candida guilliermondii cultivada em hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana destoxificado com polímero vegetal. Luciana C. S. Chaud, Priscila V. de Arruda, Rozelle C. Corrêa, Maria das Graças de A. Felipe EEL
- **Pôster 16** Efeito da adição de naringina e pó de juá na produção de naringinase por *Aspergillus niger*. **Giuliana C. Coatti**, João B. Buzato, Maria Antonia P.C. Celligoi, Adriana C. Petri UEL
- **Pôster 17** Produção simultânea de ramnosidase e naringinase por *Aspergillus niger* em fermentação em estado sólido. Adriana C. Petri, João B. Buzato, Maria Antonia P.C. Celligoi, **Giuliana C. Coatti** UEL
- **Pôster 18** Produção do complexo enzimático de beta-(1→3)-glucanase por um isolado de levedura de uva moscato bayle da região de Londrina. **Bauermeister, A**, Amador, I.R, Rezende, M.I, Dekker, R.F.H., Barbosa, A.M. UEL
- **Pôster 19 -** Avaliação da digestibilidade de bagaço de cana-de-açúcar de diferentes graus de refino com celulases comerciais. **Fernanda M. Mendes**, André Ferraz, Adriane M. F. Milagres EEL
- **Pôster 20 -** Biopolpação a partir de cultivos mistos de *Ceriporiopsis subvermispora* e *Phanerochaete chrysosporium* sobre madeira de *Eucalyptus grandis*. **Gina G. S. Cunha**; André Ferraz EEL
- Pôster 21 Composição química do bagaço de cana-de-açúcar. Victor T. O. Santos,
 Larissa Canilha, Patrícia F. Castro, Laura D. F. O. Barbosa, Adriane M.
 F. Milagres, Walter Carvalho EEL
- **Pôster 22 -** Degradação de um complexo lignina-carboidrato por manganês peroxidase de *Ceriporiopsis subvermispora* e sistemas biomiméticos. **Fernando Masarin**, Daniela Silva Costa, André Ferraz EEL
- Pôster 23 Efeito da deslignificação na hidrólise enzimática da palha de cana prétratada por explosão a vapor. Fernando M. V. de Oliveira, Irapuan O. Pinheiro, Ana Maria Souto-Maior, Adilson R. Gonçalves, George J. M. Rocha EEL
- **Pôster 24 -** Otimização das condições de hidrólise ácida diluída da casca de arroz para posterior fermentação e produção de etanol. **Lilian Hickert,** Fernanda Pereira, Priscila Souza-Cruz, Marco Ayub UFRGS

- **Pôster 25** Optimization of the diluted acid pretreatment of sugarcane bagasse at high solid:liquid ratio for ethanol production from the hemicellulosic hydrolysate by *Pichia stipitis*. Gabriel Jaime Vargas Betancur, **Felipe Peres Oliveira**, Nei Pereira Jr. UFRJ
- Pôster 26 Estudos de caracterização química, pré-tratamento e sacarificação enzimática do pseudocaule de bananeira visando sua aplicação em bioprocessos. Vinícius F. N. Silva; George J. M. Rocha, Adilson R. Gonçalves EEL
- Pôster 27 Quantification of furfural and hydroxymethylfurfural inhibitors present in sugarcane bagasse pre-treated with diluted acid. Rosilene S. Rodrigues;
 Rafaela I. S. Ladeira; Lídia N. Queiroz; Valéria M. Guimarães, Sebastião T. de Resende UFV
- **Pôster 28 -** Caracterização de ácidos fenólicos em hidrolisados ácidos de bagaço de cana. **Arion Zandoná Filho**; Luiz Pereira Ramos; Marcus Vinícius Brandalize UFPR
- **Pôster 29** Study of bleaching and recycling of xylanase enzyme in the process of pulp biobleaching soda/AQ sugarcane straw and carboxymethylcellulose obtainment. **Mori, N. R.**, Gonçalves, A. R., Rocha, G. J. M. EEL
- **Pôster 30** Hidrólise enzimática de palha de arroz. Valcenir J. M. Furlan; Juliana B. Moreira; Vanessa W. Schmidt, **Jorge A. V. Costa** UFRG
- **Pôster 31 -** Produção enzimática de xilooligossacarídeos e pentoses por hidrólise enzimática de hemicelulose de lignocelulósico. **Brienzo, M.**, Carvalho, W., Milagres, A.M.F. EEL
- **Pôster 32** Avaliação do potencial biotecnológico da palha de cana-de-açúcar para a produção de etanol de 2º geração. **Patrycia G. de Melo**, Kelly C. N. R. Pedro, Gabriel Vargas Betancur, Nei Pereira Jr. UFRJ
- Pôster 33 Influência da concentração de substrato, carga enzimática e granulometria na hidrólise enzimática do bagaço de cana pré-tratado termicamente. Rodrigo da Rocha Olivieri de Barros, Raul Alves de Oliveira, Ângela Gava Barreto, Suely Pereira Freitas, Elba P. S. Bon UFRJ
- Pôster 34 Estudo do efeito do complexo celulolítico sobre a hidrólise enzimática do bagaço. Gil Raicher, Luana R Silva, Antonio Bonomi, Rosane A. Piccoli, Maria F.A. Rodrigues, Alfredo E. Maiorano IPT
- Pôster 35 Hidrólise enzimática de resíduo do processamento de algodão. Larissa da Silva, Andrezza M. Pascoalin, Marcos H. L. Silveira, Jürgen Andreaus FURB
- **Pôster 36** Hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar utilizando complexo enzimático lignocelulósico. Giovana F. Dionisio, Flávio C. I. Santana, Andressa C. dos Santos, Flavio F. de Moraes, Gisella M. Zanin UEM
- **Pôster 37** The use of azure bacterial cellulose for monitoring the activity of cellulolytic complexes. José Domingos Fontana, Adélia Grzybowski, **Marcela Tiboni**, Mauricio Passos UFPR

- Pôster 38 Hidrólise do bagaço de cana com a enzima celulase livre e celobiase imobilizada em reatores batelada e fluidizado. Nathália Castro Leme, João Felipe Bernabé, Fernanda C. B. de Souza, Renata F. B. de Souza, Heitor Noda, Hugo R. V. R. da Silva, Marcelo F. Vieira, Paulo W. Tardioli, Flávio F. Moraes, Gisella M. Zanin UEM
- **Pôster 39** Digestibilidade enzimática do bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado com H₂SO₄ diluído. **Paula J. Esteves**, Victor T. O. Santos, Thiago R. Theodoro, Adriane M. F. Milagres, Walter Carvalho EEL
- Pôster 40 Estudos de adsorção da enzima DENIMAX em bagaço de cana-de-açúcar.
 Andrezza M. Pascoalin, Larissa da Silva, Marcos H. L. Silveira, Jürgen Andreaus FURB
- **Pôster 41** Coffee peel enzymatic digestibility evaluation for ethanol production. Hummel, L., Celis, J., Sepini, C., Mori, N. R., **Gonçalves, A. R** EEL
- Pôster 42 Efeito do teor de lignina na digestibilidade enzimática de bagaço de cana.
 Germano A. Siqueira, Daniela B. Gurpilhares, André Ferraz, Adriane M. F. Milagres EEL
- Pôster 43 Saccharification of sugarcane bagasse with enzyme preparations from Acrophialophora nainiana grown on different carbon sources. Marcos H.
 L. Silveira, Martinho Rau, Larissa da Silva, Leonora R. S. Moreira, Felix G. Siqueira, Edivaldo F. F. Ximenes, Jürgen Andreaus FURB
- **Pôster 44 -** Produção de etanol a partir dos hidrolisados enzimáticos de biomassa de capim elefante roxo. Isaías B. Soares, M.Benachour, C.A.M. Abreu UFPE
- **Pôster 45 -** Avaliação da fermentabilidade do bagaço de cana-de-açúcar deslignificado por processo organosolv. **Mariana de Oliveira Faber**, Thiago Silva de Almeida, Nei Pereira Jr UFRJ
- **Pôster 46 -** Hidrólise enzimática da casca de jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) e posterior produção de etanol celulósico. **Roberto N. Silva**, Eduardo R. Asquieri Valdirene N. Monteiro UFG
- **Pôster 47** Use of paper mill residues for the second generation ethanol production by simultaneous saccharification fermentation process. Eleandro M. Walverde, **Edelvio de B. Gomes**, Luiz A. F. S. Schilittler, Luiz C. S. Carlos, Daiana da S. Neves, Nei Pereira Jr UFRJ
- Pôster 48 Interesterificação enzimática da gordura de leite com óleo de soja usando lipase de *Rhizopus oryzae* imobilizada em SIO₂-PVA: avaliação das condições reacionais. Ariela V. de Paula, Gisele F. M. Nunes, Júlio C. dos Santos, Heizir F. de Castro EEL
- **Pôster 49 -** Utilização da enzima alcalase na hidrólise do farelo de soja. **Raquel Ströher**, Raissa Aparecida da Silveira Rossi, Ivan Lara, Gisella Maria Zanin, Nehemias Curvelo Pereira UEM
- **Pôster 50** Imobilização de fungos produtores de lipase intracelular em esponjas de poliuretano. **Grazielle S. Silva**, Júlio C. Santos, Heizir F. de Castro EEL.

- Pôster 51 Biodiesel synthesis from vegetable oils catalyzed by microbial lipases immobilized on glyoxyl-toyopearl by multipoint attachment. Adriano A. Mendes, Patrícia C. M. da Rós, Heizir F. de Castro, Raquel de L. C. Giordano EEL
- **Pôster 52 -** Síntese de monolaurina via esterificação enzimática conduzida sob irradiação de micro-ondas. Daniel E. Kashiwagi, **Aline S. Simões**, Larissa Freitas, Heizir F. de Castro EEL
- Pôster 53 Síntese de monoglicerídeos via glicerólise do óleo de babaçu catalisada pela lipase de *Pseudomonas cepacia* sob irradiação de micro-ondas. Matheus B. A. Castro, André L. Silva, Larissa Freitas, Heizir F. de Castro EEL
- **Pôster 54** Synthesis of monooleyl xylitol by chemoenzymatic esterification using non conventional heating systems. P. C. M. Da Rós, W. R. R. Fidalgo, J. C. Barboza, H. F. de Castro EEL
- **Pôster 55** Biotransformação bacteriana de glicerol. **Miguel A. A. Rodríguez**, Aline Gozzi, Benício A. de Abreu Filho, Flávio F. de Moraes, Gisella M. Zanin, Evandro Bona UEM
- **Pôster 56** Interesterificação da gordura de leite com óleo de canola empregando lipase de *Rhizopus oryzae* imobilizada em SIO₂-PVA por adsorção física e ligação covalente. **Gisele F. M. Nunes**, Ariela V. Paula, Heizir F. de Castro, Júlio C. Santos EEL
- **Pôster 57** Estratégias para superar limitações operacionais do processo de obtenção de biodiesel em regime contínuo. Gisanara Dors, Aline S. Simões, Heizir F. de Castro, Agenor Furigo Jr EEL
- **Pôster 58** Influência da concentração inicial do inóculo no cultivo da microalga *Phaeodactylum tricornutum.* **Diniara Soares**, Alexandre G. Becker, Luiz F. L. L. Júnior, Miguel D. Noseda, David A. Mitchell – UFPR
- Pôster 59 Influência da privação do nitrogênio no meio de cultura para o aumento da produção de lipídios pela *Phaeodactylum tricornutum*. Daiane Maria Rogenski Penteado, Diniara Soares, David Alexander Mitchell, Miguel Noseda, Papa Matar Ndjaye, Alexandre Becker UFPR
- Pôster 60 Bioconversão da sacarose em açúcar invertido e da glicose em ácido glicônico, através de processo descontínuo-alimentado. Fadi A. Taraboulsi Jr, Ester J. Tomotani, Michele Vitolo USP
- **Pôster 61 -** Uso de oxidorredutases para a interconversão das formas oxidada e reduzida do NADP em reator descontínuo. **Diana Z. Andreotti**, Ester J. Tomotani, Michele Vitolo USP
- Pôster 62 Avaliação da produção de ciclodextrinas pelas enzimas de Bacillus firmus cepa 7B e 37 e Bacillus sphaericus cepa 41. Cristiane Moriwaki, Cassiana Mazzer, Rúbia Pazzetto, Tieles Carina de Oliveira Delani, Graciette Matioli UEM
- **Pôster 63** Effects of the culture conditions on cyclodextrin glycosyltransferase production from *Bacillus sphaericus* strain 41. Cristiane Moriwaki, Cassiana Mazzer, Rúbia Pazzetto, Tieles Carina de Oliveira Delani, **Graciette Matioli** UEM

- **Pôster 64 -** Caracterização da atividade frutosiltransferase produzida por *Asperguillus oryzae* IPT 301. **Rafael Perna**, Elda S. Siva, Gisella M. Zanin, Maria F.A. Rodrigues, Alfredo E. Maiorano IPT
- **Pôster 65** Otimização da hidrólise enzimática do amido de grãos de sorgo (*Sorghum bicolor* L Moench) e avaliação da fermentabilidade do hidrolisado enzimático. **Carolina A. Barcelos**, Roberto N. Maeda, Gabriel J. V. Betancur, Nei Pereira Jr UFRJ
- Pôster 66 Otimização do processo de imobilização de β-galactosidase de Aspergillus oryzae em resinas de troca iônica. Carla Z. Guidini, Janaína Fischer, Larissa N. S. Santana, Vicelma L. Cardoso, Eloízio J. Ribeiro UFU
- Pôster 67 Cinética da hidrólise de lactose por β-galactosidase de *Aspergillus oryzae* imobilizada em Duolite A-568. Carla Z. Guidini, Janaína Fischer, Larissa N. S. Santana, Vicelma L. Cardoso, Miriam M. de Resende, Eloízio J. Ribeiro UFU
- **Pôster 68 -** Caracterização das propriedades catalíticas de lipases livres e imobilizadas em quitosana por ligação covalente. André G. Varela, João C. M. Dagostin, Eduardo J. Agnes, **Ernandes B. Pereira** UNIFAL
- **Pôster 69** Imobilização e estabilização de lipase em partículas de quitosana: efeito do tamanho de partícula sobre a atividade do biocatalisador. Rafael O. de Aguiar, Gabriel H. Hendler, Vanessa D. De Lucca, Eduardo J. Agnes, Marilucia R. Pereira, **Ernandes B. Pereira** UNIFAL
- **Pôster 70** Atividade e estabilidade da lipase BTL2 de *B. thermocatenulatus* em *E coli* recombinante em meio aquoso e com solventes orgânicos. Ana Maria Vélez, Dasciana S. Rodrigues, Mônica R. C. Lemma, Raquel L. C. Giordano UFSCar
- **Pôster 71 -** Propriedades enzimáticas da β-galactosidase de *Kluyveromyces marxianus* ATCC 16045 e CCT 7082. **Ana Paula Manera**, Anna Rafaela C. Braga, Luisa Sala, Patrícia A. Gomes, Joana C. Ores, Francisco Maugeri Filho, Susana J. Kalil UNICAMP
- **Pôster 72** Triagem de compostos orgânicos para incorporar matrizes híbridas baseadas em SiO₂. André L. Silva, Ariela V. Paula, Júlio C. Santos, Heizir F. de Castro EEL
- Pôster 73 Efeito de aditivos (glicerol, polietilenoglicol e trealose) na estabilidade de α-glucosidase imobilizada de saccharomyces cerevisae. Tony M. Silva, Amadi O. Chioma, Benevides C. C. Pessela, César Mateo, Roberto Fernadez Lafuente, José M. Guisan, Maria de Lourdes T. M. Polizeli FFCLRP
- Pôster 74 Imobilização da enzima amiloglicosidase em suportes orgânicos e inorgânicos e aplicação em reatores batelada e leito fluidizado. João Felipe Bernabé, Nathália C. Leme, Renata F. B. Souza, Fernanda C. B. Souza, Heitor Noda, Hugo R. V. R. da Silva, Marcelo F. Vieira, Paulo W. Tardioli, Flávio F. Moraes, Gisella M. Zanin UEM

- **Pôster 75** Produção de ciclodextrinas a partir de grânulos de amido de milho na presença de etanol. **Luiza P. V. Calsavara**, Tiago A. Balbino, Gisella M. Zanin, Flávio F. de Moraes UEM
- **Pôster 76** Mitigação de dióxido de carbono por microalga em reator tubular vertical com reciclo de meio. Michele G. de Morais, Jorge A. V. Costa UFRG
- **Pôster 77 -** Consumo de oxigênio por Cianobactéria em vinhaça a diferentes temperaturas. Reinaldo G. Bastos, Paola R. de Paiva, Octávio A. Valsechi, Jorge J. C. Lopes, Clóvis Parazzi UFSCar
- **Pôster 78** Estudo da viscosidade no processo de obtenção produto lácteo: K*efir*. Jackeline A. Gama, Artur Vagner U. da S. Gomes, Sheila B. Rezende, Roneval F. de Santana; Álvaro S. Lima, Cleide M. F.Soares UNIT
- **Pôster 79** Estudo da produção de mananase por *Aspergillus niger* (LPB-28 e LPB-59) em fermentação no estado sólido. **Valesca Weingartner**, Carlos Ricardo Soccol, Thaísa Scheuer, Luciana Porto de Souza Vandenberghe UFPR
- **Pôster 80** Avaliação da influência de diferentes fatores no crescimento micelial radial de *Pycnoporus sanguineus* cultivado em resíduos da palmeira-real-da-austrália (*Archontophoenix* spp). Josiane Borderes, Alessandra Costa, Rita de C. S. C. Valle, Lorena B. B. Tavares FURB
- **Pôster 81** Avaliação do crescimento celular e produção enzimática de *Aspergillus niger* na fermentação em estado sólido de resíduos de farelo de arroz e maracujá. **Christiane P. Rocha**, Ubirajara C. Filho, Vicelma L. Cardoso UFU
- **Pôster 82 -** Fermentação alcoólica em Reator tubular de escoamento ascendente. **Thályta Fraga Pacheco**, Eloízio Júlio Ribeiro – UFU
- **Pôster 83** Extração e determinação de enzimas produzidas por *Ceriporiopsis subvermispora* em cultivos em estado sólido sobre casca de arroz. **Janira Prichula**, Angela Machado, Priscila Souza-Cruz, Marco Ayub UFRGS
- Pôster 84 Produção de aguardente de abacaxi por fermentação alcoólica. Wagner Rodrigues de Carvalho, Lucas Adonizete de Morais Faria, Marianny Silva Canedo, Luciana Reis Fontinelli Souto, Flávio Alves da Silva, Manoel Soares Soares Junior, Márcio Caliari UFG
- Pôster 85 Fermentação alcoólica de banana para a obtenção de aguardente aromatizada. Wagner Rodrigues de Carvalho; Max Well de Oliveira Rabelo; Marianny Silva Canedo; Lucas Adonizete de Morais Faria; Syd Pereira Faria; Flávio Alves da Silva; Manoel Soares Soares Junior, Márcio Caliari UFG
- Pôster 86 Uma nova visão sobre a disciplina análise, simulação e controle de processos para os cursos de engenharia de alimentos, ciência de alimentos, engenharia biotecnológica e biotecnologia. Wagner André dos Santos Conceição, Vandoel Pedro Barbosa Filho, Mônica Ronobo Coutinho, José Eduardo Olivo, Cid Marcos Gonçalves Andrade UEM

- Pôster 87 Modelagem, simulação, otimização e controle de processos fermentativos em batelada estado da arte. Wagner André dos Santos Conceição, Vandoel Pedro Barbosa Filho, Mônica Ronobo Coutinho, José Eduardo Olivo, Cid Marcos Gonçalves Andrade UEM
- Pôster 88 Phytase optimization production by Aspergillus japonicus in submerged fermentation by plackett-burman and factorial analysis. Alexandre Maller, Ricardo F. Alarcon, André R.L. Damásio, Tony M. Silva, João A. Jorge, Hector F. Terenzi, Maria Isabel Rodrigues, Maria de Lourdes T.M. Polizeli FMRP
- **Pôster 89 -** Produção fermentativa de ácido L-glutâmico empregando melaço de cana-de-açúcar previamente hidrolisado por invertase. **Mirian Sousdaleff**, Heron O. S. Lima, Mirela V. S. Lima UTFPR
- **Pôster 90 -** Bioconversão de isoflavonas compostos glicosídicos em agliconas presentes no melaço de soja por meio da fermentação no estado sólido utilizando fungos filamentosos. **Daniel Mantovani**, Lúcio Cardozo Filho, Gisella M. Zanin, Silvio C. da Costa UEM
- **Pôster 91 -** Avaliação da eficácia dos esporos de fungo *Clonostachys rósea*. **Graciele Viccini**, David Alexander Mitchell UFPR
- **Pôster 92 -** Screening test para identificação de fungos com potencial melanolítico. **Katia Luiza Hermanna**, Alessandra Costa, Lorena B. B. Tavares – FURB
- **Pôster 93** Comparação do desempenho de reatores aeróbios na redução de DQO da manipueira em relação à diminuição do tempo de aeração. Gisele Ferreira Bueno, **Vanildo Luiz Del Bia**nchi UNESP
- **Pôster 94** Avaliação da biogênese do H₂S sob diferentes relações carbono nitrato. **Sandra M. S. Rocha**, Ricardo V. Gonçalves, Magali C.Cammarota, Vicelma L. Cardoso UFU
- Pôster 95 Ensaios preliminares de redução de cromo hexavalente em filtro biológico de escoamento contínuo. Maurielem G. Dalcin, Daniela Martins Lelis, Marcelo Pirete, Diego Lemos, Vicelma L. Cardoso, Miriam Maria de Resende UFU
- Pôster 96 Otimização da redução de cromo hexavalente em filtro biológico de fluxo contínuo pelo uso de DCC. Maurielem G. Dalcin, Daniela Martins Lelis, Marcelo Pirete, Diego Lemos, Vicelma L. Cardoso, Miriam Maria de Resende UFU
- **Pôster 97** Screening of white-rot fungi for their abilities to decolourize industrial dyes. **Giselle M. Maciel**, Dayana Laverde, Rosane M. Peralta UEM
- **Pôster 98** Purificação de ciclodextrina glicosiltransferase produzida por *Bacillus circulans*. **Vanessa S. Hermes**, Cristina Correia; Plinho F. Hertz, Simone H. Flores, Marco A. Z. Ayub UFRGS
- Pôster 99 Purificação de C-ficocianina em leito expandido em resina de troca iônica streamline DEAE streamline QXL. Caroline C. Moraes, Joana C. Ores, Anna Rafaela Braga, Luísa Sala, Jorge A. V. Costa, Susana Juliano Kalil UFRGS

- **Pôster 100 -** Determinação do potencial inibitório e destoxificação de hidrolisado de biomassa vegetal para produção de bioproduto. Francislene A. Hasmann, Daniela B. Gurpilhares, Valéria C. Santos, Adalberto Pessoa-Jr, Inês C. Roberto EEL
- **Pôster 101 -** Purificação de IgG humana utilizando o-phospho-serina imobilizada em géis de agarose. **Igor Tadeu L. Bresolin**, Iara R. A. P. Bresolin, Sônia M. A. Bueno UNICAMP
- **Pôster 102 -** Integrated process to separate and purify lactose from cheese whey. **Franciele R. B. Turbiani**, Rosane R. Souza, Marcelino L. Gimenes – UEM
- **Pôster 103 -** Extração da proteína sericina a partir dos casulos do bicho da seda (*Bombyx mori*). **José Tomadon Júnior**, Franciele R. B. Turbiani, Willians D. B. Saraiva, Marcelino L. Gimenes UEM
- **Pôster 104 -** Partial citric or phosphoric acid hydrolyses for the production of FOS fructooligosaccharides. José Domingos Fontana, Adélia Grzybowski, **Marcela Tiboni**, Mauricio Passos UFPR
- **Pôster 105 -** Cálculo das constantes de equilíbrio entre alfa e beta-ciclodextrinas pela teoria da complexação. **Carlos E. Barão**, Gisella M. Zanin, Flávio F. de Moraes UEM
- Pôster 106 Estudo da complexação da enrofloxacina com ciclodextrinas. Luiza P.
 V. Calsavara, Taís W. Sereza, Gisella M. Zanin, Flávio F. de Moraes UEM
- **Pôster 107 -** Formação do complexo de inclusão entre linalol e ciclodextrinas. **Priscila Bonetti**, Rita C. Bergamasco, Gisella M. Zanin UEM
- **Pôster 108 -** Produção de 5-hidroximetilfurfural a partir de frutose e glicose. **Priscila Marques de Siqueira**, Juliana Ferreira Gonçalves, Elaine Lima dos Anjos, Leonardo Peixoto Costa, Edelvio de Barros Gomes, Nei Pereira Jr UFRJ
- **Pôster 109 -** Caracterização de filmes de gelatina/quitosana modificados com genipina por meio de técnicas espectroscópicas. **Edson M. Yajima**, Flávio Faria de Moraes, Osvaldo C. Albuquerque, Gisella M. Zanin UEM
- **Pôster 110 -** Filmes comestíveis de alginato de sódio reticulados com íons Ca²⁺ contendo agente antimicrobiano. **Franciele R. B. Turbiani**, Marcelino L. Gimenes UEM

IX	Simpósio de	Hidrólise	Enzimática o	de Biomassas:	Marinoá 23	3 a 27	novembro	2009
1/1	DITITIONS OF THE	, indionse	Enzimanica (ic Diomassas.	maininga, 4.) a 41.	TICOVCITION C.	4()()

CONFERÊNCIAS / LECTURES

CONFERÊNCIA I

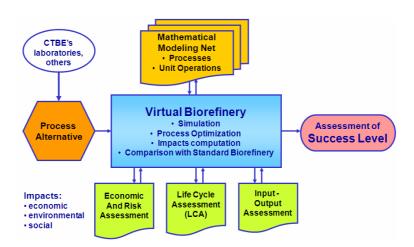
VIRTUAL SUGARCANE BIOREFININERY (VSB): A TOOL TO EVALUATE THE SUSTAINABILITY OF DIFFERENT TECHNOLOGICAL ALTERNATIVES

Antonio Bonomi; Mirna I.G. Scandiffio; Marcelo P. Cunha; Charles D.F. Jesus and Marina O.S. Dias

Bioethanol Science and Technology Center - CTBE; Caixa Postal 6170, 13083-970 – Campinas, São Paulo, Brazil.

E-mail: antonio.bonomi@bioetanol.org.br

The advanced stage of the bioethanol production in Brazil calls for the creation of a tool to allow the evaluation of new technologies under development regarding their sustainability and comparing them with processes under operation in ethanol and sugar mills that use sugarcane as raw material. This reality induced CTBE to prepare the proposal of a program that, based on modern mathematical modeling, simulation and process integration techniques, will construct a biorefinery model, able to assess and virtually compare the commercially consolidated schemes with the ones under development in laboratories and pilot plants. This tool could help to project a real biorefinery having sugarcane as the carbon source. Figure 1 presents the general concept of the VSB.



Preliminary results of the simulation of first generation biorefineries producing anhydrous ethanol and bioelectricity will be presented together with sensitivity analyses considering impacts of sugarcane costs and quality (sucrose and fiber contents) on the ethanol and bioelectricity final costs. Furthermore, a first trial, of a second generation ethanol production from the hydrolysis of the surplus biomass (bagasse and trash), using process data available in the technical literature, will be presented.

CONFERÊNCIA II

APPROACHES TO IMPROVE BIOMASS HYDROLYSIS IN SUGAR PLATFORM BIOREFINERIES

Matti Siika-aho; Anne Kallioinen; Liisa Viikari*; Jari Vehmaanperä**; Markku Leskelä***; Anu Koivula; Kristiina Kruus and Niklas von Weymarn

VTT Bioprocessing, P.O. Box 1000, Tietotie 2, Espoo, FI-02044VTT, Finland.

- * Department of Applied Chemistry and Microbiology, University of Helsinki, P.O. Box 27, FI-00014, Helsinki, Finland.
- ** Roal Oy, P.O. Box 57, FI-05201 Rajamäki, Finland
- *** Department of Chemistry, University of Helsinki, P.O. Box 55, FI-00014, Helsinki, Finland.

E-mail: matti.siika-aho@vtt.fi

Objective: This presentation aims at discussing the advances in development of more efficient enzymatic hydrolysis processes for the total hydrolysis of lignocellulosics in sugar platform biorefineries. A review focusing on enzyme development and pretreatment technology will be presented.

Introduction: Conversion of plant cell wall carbohydrates to fermentation products, such as ethanol is a complex and integrated process, consisting of pre-treatment, hydrolysis and fermentation stages. These stages are dependent on each other and thus, when improving the conversion efficiency the whole process and its configuration must be considered.

Results: Biomass pre-treatment using a new oxidative method produced fiber fractions with low inhibitor content and improved hydrolysis characteristics as compared to state of art methods, such as pretreatment by steam explosion. The hydrolysis performance could be improved by using enzymes with increased thermostability, applying more optimal enzyme profiles and applying substrate-specific helper enzymes. The improvement of thermostability by protein engineering was also demonstrated. The challenges and the on-going work at VTT related to these topics will be reviewed.

Conclusion: The performance of enzymatic hydrolysis of lignocellulosics could be increased by obtaining cellulose fraction by delignifying pretreatments, by developing high temperature processing using thermostable enzymes and by applying improved enzyme cocktails for hydrolysis. Enzymes and processes which convert biomass to fermentable sugars efficiently at high dry matter will be required for future sugar platform biorefinery processes.

CONFERÊNCIA III

IMOBILIZAÇÃO ORIENTADA DE ENZIMAS VERSUS ESTABILIDADE

Paulo Waldir Tardioli¹, Marcelo Fernandes Vieira², Angélica Marquetotti Salcedo Vieira³, Cesar Mateo⁴, Roberto Fernández-Lafuente⁴, José Manuel Guisán⁴

A orientação de uma região particular da superfície de uma enzima pode influenciar a atividade recuperada e, particularmente, a estabilidade frente à alta temperatura, solventes orgânicos e outros agentes inativantes. Este trabalho mostra como diferentes orientações da enzima amiloglicosidase sobre o suporte orgânico agarose pode influenciar de forma significativa a sua estabilidade térmica. Selecionando métodos adequados de ativação a amiloglicosidase pode ser orientada ao suporte por sua região mais rica em cargas negativas, grupos amino de resíduos de lisinas, grupos imidazol de histidinas, tiol de cisteínas, fenol de tirosinas e amino terminal. Duas imobilização foram utilizadas: ligação (imobilização por troca iônica) e ligação irreversível (imobilização covalente). Usando suportes ricos em cargas positivas (DEAE-agarose, MANAE-agarose e PEI-agarose), preparamos derivados ativos com estabilidade térmica similar a da enzima solúvel. Estes derivados, além de poderem ser reutilizados e permitirem o desenvolvimento de processos contínuos, importantes características para processos industriais, possuem a vantagem adicional de permitirem regeneração do suporte, particularmente importante quando o custo do suporte é elevado. Dentre os suportes ativados usados para acoplamento irreversível suporte-enzima (CNBragarose, glioxil-agarose, glutaraldeído-agarose, epóxi-agarose, aminoepoxi-agarose, IDA-Cu-agarose, e outros), glioxil-agarose mostrou-se melhor para a estabilização da enzima. Entretanto, devido a baixa concentração de resíduos lisinas, uma modificação química na estrutura da enzima foi necessária para imobilizar AMG neste suporte. O melhor derivado preparado (AMG imobilizada) foi aproximadamente 580 vezes mais estável que a enzima solúvel. As condições usadas na preparação deste derivado foram AMG aminada quimicamente, glioxil-agarose 10BCL ativado com 200 µmoles de grupos aldeídos por ml de suporte, 25°C, 1 h a pH 9.0 e 4 h at pH 10.

¹ Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos-SP

² Centro de Tecnologia, Universidade Estadual de Maringá, Umuarama-PR.

³ Departamento de Engenharia Química, Universidade Estadual de Maringá, Maringá-PR.

⁴ Departamento de Biocatálisis, Instituto de Catálisis, CSIC, Madri, Espanha

CONFERÊNCIA IV

PRODUÇÃO DE ENZIMAS POR FERMENTAÇÃO EM ESTADO SÓLIDO

Daniel Ernesto Rodríguez-Fernández, <u>José Angel Rodríguez-León</u>, Julio Cesar de Carvalho, e Carlos Ricardo Soccol

E-mail: peperoenator@gmail.com

Objetivo. Determinar as fases fundamentais da produção de enzimas em fermentação em estado sólido (FES).

Materiais e Métodos. Estudou-se como modelo a produção de pectinases obtidas a partir de resíduos integrais de laranja em pregando uma cepa de *Aspergillus niger*.

Resultados e Discussão. Para determinar a base fundamental dum processo de obtenção de enzimas induzidas por FES e preciso considerar três fases: a) a fase da cinética do crescimento e produção da enzima, b) a fase extrativa da enzima da matriz fermentada (lixiviação) e c) o escalado do processo. A fase da cinética é determinada a partir do balanço do consumo de oxigênio. A areação servirá como critério do escalado do processo. No caso da lixiviação se determina a cinética da Operação Unitária.

CONFERÊNCIA V

APLICAÇÃO DE ENZIMAS COMERCIAIS NO PROCESSO DE FABRICAÇÃO DE ALCOOL DE CANA-DE-AÇÚCAR

Rafael de A. Borges; Débora Gasparino; Elisa Ravagnani e Daniella Valeri PROZYN INDÚSTRIA E COMÉRCIO LTDA, Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento, R. Dr. Paulo Leite de Oliveira, 199, CEP: 05551-020, SÃO PAULO, SP, BRASIL.

E-MAIL: rafael@prozyn.com.br

Objetivo: Avaliar o aumento dos açúcares redutores totais (ART) na fabricação de álcool de cana-de-açúcar utilizando carboidrases comerciais. Materiais e Métodos: Primeiramente foram realizados testes laboratoriais, onde o mosto, a 17° Brix, foi hidrolisado pelas enzimas Dextramax, Starmax Sugar, Starmax FA e Starmax GA (Prozyn Ind. e Com. Ltda.). Baseando-se nos resultados de laboratório, foram realizados testes industriais em uma usina de álcool e açúcar com capacidade de produção de 2 milhões de sacos de açúcar, e 21 milhões de litros de etanol. As enzimas foram acrescentadas em diferentes etapas do processo, de acordo com a condição ideal de atuação das mesmas. Nos testes laboratoriais o parâmetro analisado foi a concentração de ART ao longo da hidrólise enzimática. Para os testes industriais além do ART, também se acompanhou a concentração alcoólica do mosto fermentado.

Resultados: Nos testes laboratoriais observou-se, quando comparado com o branco (mosto sem enzima), que a reação enzimática foi responsável por aumentar até 25,4 % da quantidade de ART no mosto. Nos testes industriais, o uso das enzimas resultou em um aumento de 8,9 % de ART no mel final e 9,8 % no mosto de alimentação. Em relação ao rendimento alcoólico, o uso das enzimas permitiu um aumento de 7 % do teor alcoólico. Embora não tenha sido o objetivo do trabalho foi observado um decréscimo na quantidade de amido de 70 % e uma redução de cor na ordem de 30 % no açúcar VHP.

Conclusão: O uso das enzimas resultou em um aumento na concentração de ART no mosto e um consequente aumento do teor alcoólico nos testes industriais, porém mais testes são necessários para ajustes e otimização do processo. O uso dessas enzimas ainda possibilitou melhorias na fabricação de açúcar, facilitando o processamento e melhorando a qualidade do produto final.

CONFERÊNCIA VI

NEW TECHNOLOGIES FOR CLEAN AND RECYCLE OF URBAN WASTE WATER: SUBMERGED MEMBRANES AND MICROALGAE PHOTOREACTORS

JOSÉ CARDOSO DUARTE¹, CRISTINA MOREIRA¹, BELINA RIBEIRO ¹, PAULA GONÇALVES², GORETE BATISTA² and ALAIN GRASMICK³

Corresponding author: jose.duarte@ineti.pt

New technologies to recycle water from municipal waste water treatment plants and contribute for the environmental sustainability of towns and regions is of utmost urgency. This study is taking place on the Mondego River, lower basin and estuary, from Coimbra to Figueira da Foz.

In this work we developed a new treatment system using submerged membrane bioreactors for improved treatment and removal of pollution eliminating particles, bacterial and virus from the treated effluents.

Use of microalgae photoreactors as an alternative tertiary treatment of urban wastewaters was also evaluated.

Monitoring and long distance supervision are also possible with this system. The biotreatment process was monitored with an online sensor based on ultra violet spectra technology for continuous analysis of COD, NO₃ and TSS. This system eliminates the constant need for samples recollection to further analysis.

Supervision is ensured by last generation SCADA software (MOVICON), analyzing in real time all the occurrences and registering all the values in a data base. A new system of at distance supervision and control for urban wastewater treatment plants (WWTP's) was also tested and could allow for better technical performance and economy.

Acknowledgements: This work is funded by the EU, LIFE03/ENV/P/00523

¹Departamento de Biotecnologia, INETI, Lumiar, 1649-038 Lisboa, Portugal

²Águas da Figueira SA, Figueira da Foz, Portugal

³Laboratoire de Génie des Procédés d'Elaboration des Bioproduits, CC005 - Université de Montpellier II, 34095 Montpellier Cx 05, France;

CONFERÊNCIA VII

PERSPECTIVAS DA PRODUÇÃO DE ETANOL NO BRASIL

Jaime Finguerut

CTC-Centro de Tecnologia Canavieira, P&D Industrial; Fazenda Santo Antonio s/n, Caixa Postal 162, Bairro Santo Antonio, Piracicaba, SP, CEP 13400-970 Brasil

E-mail: jaime@ctc.com.br

Objetivo: O objetivo deste trabalho é mostrar uma visão geral das tecnologias atuais usadas na fabricação do etanol de cana-de-açúcar e as perspectivas de uso das tecnologias da nova geração.

Materiais e Métodos: os resultados que serão mostrados foram obtidos analisando os dados de performance dos processos principais, como operados normalmente em unidades associadas ao CTC.

Resultados: verifica-se grande evolução na performance, verificando-se ganhos de produtividade e eficiência, simultaneamente. Nota-se que nos últimos anos estes ganhos não são tão significativos.

Conclusões: a evolução, baseada em P&D&E, levou o Brasil a ter o etanol mais barato e sustentável do mundo. O etanol brasileiro já é considerado internacionalmente como a melhor opção para a gasolina. No entanto esta evolução não pode continuar indefinidamente, em função do atingimento da maturidade destes processos, sendo portanto necessário encontrar soluções novas que permitam saltos significativos. Tais soluções já estão em desenvolvimento acelerado, baseadas em biotecnologia vegetal, geoprocessamento e no melhor uso da biomassa da cana com a integração de novos processos como os assim chamados de segunda e terceira geração.

CONFERÊNCIA VIII

ADVANCED IN THE CELLULOSIC ETHANOL PRODUCTION

Benjamin Raerup Knudsen¹; Larissa Canilha¹; Daniella dos Reis Garcia¹, Thiago Alessandre da Silva¹; Armindo Ribeiro Gaspar², Marie Linde³

¹Biofuels R&D, Novozymes Latin America Ltda., R. Professor Francisco Ribeiro, 683, 83707-660 - CURITIBA - PR, Brazil.

²Biomass R&D, Novozymes North America Inc., 77 Perry Chapel, 27525 - Franklinton - NC, United States.

³Biofuels R&D, Novozymes S/A, Krogshoejvej 36, 2880 - Bagsvaerd - BA, Denmark.

E-mail: brkn@novozymes.com

Significant progresses have been made in the second-generation bioethanol from lignocellulosic materials. The use of cellulolytic enzymes to convert these materials to ethanol is not a new concept. However, high performance enzymes are a key point for cost-effective production of fermentable sugars from residues. CellicTM CTec and HTec are the first enzymes that live up to these criteria, representing a giant step towards commercial viability for second-generation bioethanol. Best cost/performance ratio, wide versatility, proven on different feedstocks and processes, concentrated and stable formulations and professional technical support available with different fields of expertise, are some of benefits that these enzymes present. For instance, if the pretreated feedstock of interest contains an appreciable amount of hemicellulose, it is advised to combine CellicTM CTec and HTec, an endoxylanase with high specificity towards soluble hemicellulose.

Novozymes Latin America Ltda. has been creating a scientific and technological platform for the development of a commercially viable process for converting sugarcane biomass into fermentable sugars, understanding the dynamic impact between pretreatment and enzymatic hydrolysis in order to specifically design the process and enzymes for cost-effective cellulose conversion.

ORAIS / ORAL

IMPROVEMENT OF THE THERMOSTABILITY OF ORPINOMYCES SP. PC-2 XYLANASE BY DIRECTED EVOLUTION

<u>Larissa M. Trevizano</u>; Rafaela Z. Ventorim and Valéria M. Guimarães Biochemistry and Molecular Biology Department, Federal University of Viçosa; Av. PH Rolfs, s/n, 36.571-000 – VIÇOSA-MG, Brazil.

E-mail: larissa_trevizano@yahoo.com.br

Objective: The objective of this work was to select mutants that presented larger thermal stability through several screening cycles accomplished at a library of *Orpinomyces* xylanase (xynA) mutants created by the error-prone PCR technique.

Methods: The library was submitted to screening cycles and the transformants were first exposed to 60 °C during one hour and then the thermostable mutants were selected with the azo-xylan-agarose 0.2% pH 6.5 as substrate. The selected mutants were sequenced and these amino acid sequences were analyzed to identify the mutations. To evaluate the mutation effects in the enzyme properties, these ones were characterized for the thermostability, optimum temperature, optimum pH and substrate specificity. Xylanase activity was determined by measuring the release of reducing sugars from birchwood xylan (1% w/v, pH 6.5) using dinitrosalicylic acid reagent at 40 °C, 30 min reaction time. One unit of enzyme activity was defined as the amount of enzyme that released 1 μmol of reducing sugar per min at 40 °C. To investigate the structure/function relationship between the mutants and the wild-type an analysis of comparative modeling of three-dimensional structures was accomplished.

Results: Two mutants displayed higher stabilities than wild-type. Whereas the wild-type lost 60% of its activity after 10 min at 60 °C, mutants M4 and M6 showed enhanced thermostability and retained approximately 50% of its activities after treatment at 60 °C for 60 min. The mutants and the wild-type showed an optimal temperature and pH for xylanase activity at 60 °C and pH range of 5.0-7.0. The mutants and the wild-type xylanases efficiently hydrolyze the substrates tested. The three-dimensional structures between the thermostable mutants and the wild-type were predicted to identify possible mutations that confer thermostability.

Conclusion: The screening technique was efficient in the selection of two xylanase mutants with higher thermostability aiming their application in biotechnological processes.

AVALIAÇÃO DA EVOLUÇÃO DIRECIONADA NO DESEMPENHO DA LINHAGEM PICHIA STIPITIS NA FERMENTAÇÃO ALCOOLICA DE HIDROLISADOS HEMICELULÓSICOS DE BAGAÇO DE CANA

<u>Felipe Peres Oliveira</u>, Ludmylla Bastos Rocha de Souza, Gabriel Jaime Vargas Betancur e Nei Pereira Jr.

Departamento de Engenharia Bioquímica, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil.

E-mail: nei@eq.ufrj.br

Objetivo: O presente trabalho tem como objetivo investigar por meio da utilização de técnicas de evolução direcionada para a obtenção de linhagens de *Pichia stipitis* com uma capacidade melhorada para a fermentação alcoólica de xilose proveniente da hemicelulose de bagaço de cana de açúcar.

Materiais e Métodos: A linhagem LADEBIO01 foi repicada sucessivamente em meio contendo inicialmente 25% de hidrolisado (previamente esterilizado) a cada 48h, para após 10 repiques aumentar o teor de hidrolisado gradativamente. As condições para incubação foram 30°C e 200 rpm em frascos cônicos de 500mL contendo 50mL de meio. O comportamento do microorganismo foi avaliado para fermentação em meio sintético e hidrolisado hemicelulósico a cada 10 repiques em bioreator instrumentado. Paralelamente foi avaliado o comportamento da linhagem original (CBS 5774) nas mesmas condições experimentais.

Resultados: Verificou-se que as linhagens apresentaram o mesmo perfil de fermentação em meio sintético, entretanto a levedura LADEBIO01 apresenta maior eficiência utilizando hidrolisado, esgotando a fonte de carbono num tempo consideravelmente menor, de 48 para 40 horas. Após o 20º repique da linhagem ladbio1, foi confirmado o esgotamento da fonte de carbono do hidrolisado em um tempo menor ainda, de 40 para 36 horas.

Conclusões: De acordo com os resultados supracitados temos o forte indicativo de que a levedura melhore seu desempenho na fermentação alcoólica do hidrolisado conforme o número de repiques seja maior.

EXPRESSÃO HETERÓLOGA DE CELOBIOHIDROLASE (GH7) DE Aspergillus niveus em Aspergillus nidulans

André R. L. Damásio¹; Fernando Segato²; Rolf A. Prade²; Maria L. T. M. Polizeli³

Objetivo: Clonagem de um gene de *A. niveus* codificando para uma celobiohidrolase e expressão heteróloga em *A. nidulans* A773 (pyrG⁻, pyro⁻).

Métodos: O DNA genômico de *A. niveus* foi sequenciado pelo método de pirosequenciamento, junto a Creative Genomics (Port Jefferson Station, NY) sob supervisão do Dr. Mark Fong, utilizando-se "Roche 454 GS-FLX System". A partir de um banco de dados contendo aproximadamente 200 sequencias de enzimas que degradam a parede celular, identificando genes de celobiohidrolases. Um desses genes foi clonado e para a clonagem e expressão heteróloga, utilizou-se um vetor modificado a partir do plasmídeo pFE2, denominado pEXPYR, o qual apresenta o gene *pyrG* de *Aspergillus niger*, permitindo a transformação de *A. nidulans* por complementação. Os genes clonados neste vetor são controlados por um promotor de glucoamilase ativado por maltose.

Resultados: A expressão heteróloga de celobiohidrolase em A. nidulans mostrouse extremamente eficiente, uma vez que, aplicando-se 5 µg de proteínas totais em SDS-PAGE verificou-se a presença de protéica um banda aproximadamente 54 kDa, correspondente a celobiohidrolase clonada (Fig. 1). A mesma apresentou atividade enzimática contra avicel (0,45 U/mg), CMC (0,42 U/mg), laminarina (1,87 U/mg), liquenana (1,30 U/mg) e PNP-celobiosídeo (0,25 U/mg). A partir de 72 h de cultivos estáticos ou sob agitação, verificou-se uma redução drástica na concentração de celobiohidrolase no meio extracelular, indicando a presença de proteases secretadas naturalmente por A. nidulans

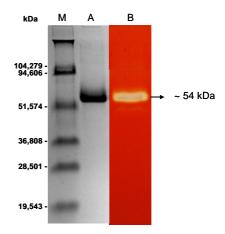


Fig 1. Identificação de celobiohidrolase em SDS-PAGE impregnado com CMC. M= marcadores de peso molecular; A= SDS-PAGE revelado com Coomassie blue; B= SDS-PAGE impregnado com CMC e revelado com Congo Red

Conclusões: O vetor pExPYR e a cepa de *A. nidulans* A773 (pyrḠ, pyrō) demonstraram extrema eficiência na transformação e super-expressão de celobiohidrolase, uma vez que a mesma é secretada para o meio extracelular livre de outras proteínas, sendo desnecessário a realização de processos de purificação.

Agradecimentos: FAPESP e CNPq (INCT)

¹ Departamento de Bioquímica e Imunologia – FMRP/USP – Ribeirão Preto/SP - BR

² Departamento de Microbiologia e Genética Molecular – Oklahoma State University – Stillwater/OK - EUA

³ Departamento de Biologia – FFCLRP/USP – Ribeirão Preto/SP – BR E-mail: andre.damasio@gmail.com

PRODUÇÃO DE XILANASES E CELULASES PELO FUNGO TERMOFÍLICO HUMICOLA GRISEA VAR. THERMOIDEA EM DIFERENTES SUBSTRATOS

<u>Guilhermar Ramos de Melo¹</u>, Wagner Rodrigues de Carvalho¹, Gisele Silva de Oliveira¹, Syd Pereira de Faria¹, Fabrícia Paula de Faria¹

¹Universidade Federal de Goiás, Instituto de Ciências Biológicas 2, Laboratório de Biotecnologia de Fungos

Campus Samambaia, ICB2, DBBM, Laboratório de Biotecnologia de Fungos, CEP 74.001-970, GOIÂNIA-GO, Brasil

E-mail: guilhermarramos@yahoo.com.br

Objetivo: O presente trabalho teve como objetivo determinar a melhor condição de cultivo para a produção de xilanases e celulases pelo fungo *Humicola grisea* var. *thermoidea* a partir de diferentes substratos.

Materiais e Métodos: O H. grisea foi cultivado em meio ágar-aveia a 42°C por 4 dias e seus esporos foram coletados em solução salina 0,15M e quantificados em câmara de Newbauer. Em frasco Erlenmeyer de 250 mL de capacidade inoculou-se 0,35x10⁶ esporos/mL em 100 mL de meio mínimo e ajustou-se o pH para 6,8 após a adição das fontes de nitrogênio (0,025% de extrato de levedura e 0,025% de sulfato de amônia). Adicionou-se a fonte de carbono (FC) e incubou-se a 42°C sob agitação de 120 rpm por 192 h. Foram testadas as seguintes FC, nas concentrações de 1 e 2%: farelo de trigo (FT), bagaço de cana-de-açúcar (BCA), palha de arroz (PA) e sabugo de milho (SM), os quais foram lavados em água, secos a 70°C e moídos utilizando peneira de 20 mesh. A cada 24h foram retiradas alíquotas para análise das atividades de xilanase, carboximetilcelulase e avicelase pelo método de açúcares redutores (DNS).

Resultados: Os resultados a seguir apresentam as condições ideais de cultivo do *H. grisea* para a obtenção de cada enzima analisada, dentro das condições testadas: Xilanase (15,89 U/mL após 96 h utilizando 2% de FT); FPase (0,17 U/mL após 144 h utilizando 2% de BCA); CMCase (2,13 U/mL após 144 h utilizando 2% de BCA) e Avicelase (0,13 U/mL após 48 h utilizando 1% SM).

Conclusão: Os resultados obtidos indicam que o uso de uma maior concentração de substrato proporciona um aumento na atividade das enzimas analisadas, sendo o BCA o melhor indutor de celulases (FPase e CMCase) e o FT o melhor indutor de xilanases.

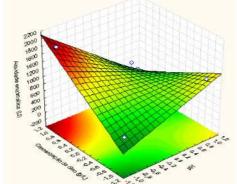
FATORES QUE INFLUENCIAM NA PRODUÇÃO DE LIPASE EXTRACELULAR DE *RHIZOPUS ORYZAE*

Américo C. Júnior, Joel P. V. Júnior e Sabrina M. V. Pacheco e Agenor F. Junior Universidade Federal de Santa Catarina — Depto. de Engenharia Química 88040-900 Florianópolis — SC - E-mail: americocruz2000@yahoo.com.br

Objetivo: o objetivo deste estudo foi, primeiramente analisar, dentre diferentes tipos de óleos vegetais, aquele capaz de induzir a maior produção de lipase. A partir desta informação, realizar um projeto de planejamento fatorial para determinar as melhores condições de produção da lipase a partir do *Rhizopus oryzae*.

Métodos: A etapa 1 consistiu na verificação do óleo que induzia a maior produção de lipase. Para isso foram testados os óleos: soja, buriti, girassol, mamona e óleo de soja usado em frituras de frango do Restaurante Universitário (RU – UFSC). Os ensaios foram realizados com a adição de 5g/L dos diferentes tipos de óleo ao meio de cultura basal, constituído por 1% de glicose, 2% peptona, 0,5% de extrato de levedura, 0,1% de NaNO₃, 0,1% KH₂PO₄, 0,05% MgSO₄ e 0,05mL Tween 80. Os meios de cultivo e o meio de controle negativo foram adicionados em erlenmeyers de 250mL com um volume de trabalho de 50mL. Os frascos foram acondicionados em shaker a 180rpm, 28°C por 7 dias. Os experimentos foram realizados em triplicata totalizando 18 erlenmeyeres. A inoculação do fungo *Rhizopus oryzae* nos erlenmeyeres foi realizada através da adição de aproximadamente 2x10⁴ esporos/mL. A etapa 2 consistiu em determinar os valores mais indicados de pH e concentração do óleo. Para isso, foi realizado um planejamento fatorial 2² + ponto central.

Resultados: Os ensaios realizados utilizando o óleo de girassol foram os que acarretaram na maior produção de lipase. Para os dados referentes aos planejamento fatorial, foi possível verificar que os fatores pH e concentração do óleo possuem interação significativa entre si, adotando-se um nível de significância de 0,05. Entretanto, isoladamente o fator concentração do óleo possuiu influencia mais expressiva sobre a produção da enzima. A tabela da ANOVA ilustrou a existência de curvatura na região obtida, conforme ilustrado através da Figura 1.



Conclusão: Foi possível verificar que o fungo *Rhizopus oryzae* produziu uma concentração mais significativa de lipase com o óleo de girassol. Através do planejamento fatorial completo foi possível concluir que o pH e a concentração de óleo são fatores muito significativos para a indução da produção de lipase.

INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA NA PRODUÇÃO DE LACASES DE BASIDIOMICETOS CRESCIDOS EM CASCA DE LARANJA EM SISTEMA DE CULTIVO SEMI-SÓLIDO

Ana Maria Alexandrino; Paula Gimenez Milani; Caroline Ap^a Vaz de Araujo; <u>Giselle Maria Maciel</u>; Rosane Marina Peralta e Cristina Giatti Marques de Souza.

Departamento de Bioquímica, Universidade Estadual de Maringá;

Av. Colombo, 5790, 87020-900 – MARINGÁ-PR, Brazil

e-mail: gisellemariam@gmail.com

Objetivo: O presente trabalho teve como objetivo avaliar a influência da temperatura na produção de lacase por três basidiomicetos: *Ganoderma lucidum*, *Pleurotus pulmonarius* e *Pleurotus ostreatus*, quando estes foram crescidos em resíduo da indústria de suco de laranja.

Métodos: Casca de laranja (2g) umedecida com sais de Vogel (25mL) e suplementada com glicose (1%) + uréia (1,5%) foi esterilizada em frascos erlenmeyer de 125mL e inoculada com discos de micélio dos fungos. Os frascos permaneceram em incubadora em diferentes temperaturas (28, 33 e 35°C) por no máximo 15 dias. Para interromper os cultivos foram utilizados 20 mL de água destilada. O filtrado do material foi usado para a determinação da atividade enzimática. A biomassa foi removida, lavada e seca a 40 °C. A lacase foi medida utilizando-se o método do ABTS. Os açúcares redutores foram estimados pelo método do DNS.

Resultados: A temperatura mais elevada não inibiu o crescimento dos três fungos e todos apresentaram rendimento semelhante nas três temperaturas. No entanto *P. ostreatus* e *G. lucidum* produziram aproximadamente 4 vezes mais lacase que *P. pulmonarius* independentemente da temperatura de crescimento. Apenas nos cultivos de *P. ostreatus* houve diferença significativa na produção da lacase no último tempo de cultivo, onde a 28°C houve maior secreção da enzima. Para o *G. lucidum* o pico de atividade ocorreu no 10° dia com subseqüente queda, diferentemente dos cultivos dos outros dois fungos nos quais os níveis de enzima continuaram aumentando.

Conclusões: Os dados obtidos mostram que a temperatura de cultivo não influenciou no crescimento e produção das enzimas dos três fungos, de forma significativa. Considerando que a casca de laranja é um substrato promissor para produção de enzimas e outros compostos bioativos de fungos basidiomicetos, o presente trabalho pode contribuir para os processos de otimização dos cultivos utilizando este tipo de substrato.

TECHNICAL AND ECONOMICAL EVALUATION OF BIOPULPING TRIALS PERFORMED AT 50-TON PILOT SCALE

André Ferraz, Fernando Masarin, Elaine R. Kitazuru, Gina G.S. Cunha and Paulo C. Pavan

Escola de Engenharia de Lorena - Universidade de São Paulo CP 116, 12602-810 Lorena, SP / email: aferraz@debiq.eel.usp.br

Objective: This work was performed to evaluate the technical and economical feasibility of biopulping at a pilot scale. The process comprises the fungal pretreatment of wood chips for production of thermo-mechanical (TMP) or chemi-thermo-mechanical (CTMP) pulps.

Methods: Biomechanical pulping was scaled-up to 50-ton chip piles of *Eucalyptus grandis* wood chips. Wood biotreatment was evaluated with *Ceriporiopsis subvermispora* or *Phanerochaete chrysosporium* under several inoculation procedures and culture conditions.

Results: In successful trials, energy savings of 18% and 27% were respectively, in TMP and CTMP processes when C. obtained, subvermispora SS-3 was used in the biotreatment step. In this case, strength properties of the biopulps were neither improved nor deteriorated. Wood biotreatment with *P. chrysosporium* RP-78 provided 18.5 % energy saving while the biopulps presented lower shive content and improved strength properties as compared to control pulps. Tensile index improved from (25 + /- 1) N.m/g to (33.6 + /- 0.5) N.m/g and delamination strength from (217 +/- 19) kPa to (295 +/- 30) kPa. Combination of both fungal species in a single biotreatment step was also attempted at laboratory scale showing promising results. For economical evaluation of the biopulping process, only energy savings were considered as a benefit for the fungal treatment of the wood chips. At the best scenario, with the lowest biotreatment and the highest energy costs (US\$ 7.2/ton and US\$ 125/MWh, respectively), economical benefits could be attained for energy savings higher than 8%. On the other edge (biotreatment and energy costs of US\$ 29/ton and US\$ 74/MWh, respectively), economical benefits could be attained only for energy savings higher than 28%.

Conclusion: Biopulping is technically feasible even at large scale using chip piles for the culture of the white-rot fungus. Economical feasibility of the technology depends on the biotreatment costs and the energy prices. Simulation of different levels for these variables indicated that economical benefits could be attained from 8% energy savings.

Acknowledgements: Work supported by FAPESP, CNPq, CAPES, FINEP and Melhoramentos Papéis Ltda.

OTIMIZAÇÃO DA DESLIGNIFICAÇÃO DO PAPELÃO PARA PRODUÇÃO DE ETANOL POR PROCESSO SSF

Mariana Mello P. da Silva; Isadora D. M. Silva; Roberto N. Maeda, Neumara L. C. Silva e Nei Pereira Jr.*

Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química/LADEBIO. CEP 21949-900 - Rio de Janeiro (RJ). E-mail: nei@eq.ufrj.br

Objetivo: Este estudo teve como objetivo otimizar parâmetros da etapa de deslignificação de papelão oriundo de resíduos urbanos visando à produção de etanol pelo processo de Sacarificação e Fermentação Simultâneas (SFS).

Métodos: Para otimização da deslignificação do papelão, avaliou-se a relação Sólido:Líquido (1:10 a 1:20) e concentrações de NaOH (1,5 a 4%). Realizou-se um planejamento experimental central composto rotacional e a otimização foi realizada por meio da função Desirability. As variáveis de resposta foram glicose (liberada após hidrólise enzimática) e etanol. Após deslignificação, realizou-se uma pré-hidrólise enzimática com celulases comercial (25 FPU/g) seguido de fermentação utilizando levedura *Saccharomyces cerevisiae*. A glicose liberada foi quantificada em CLAE e o etanol produzido por CG.

Resultados: Na Figura 1 está apresentada a superfície de resposta para a liberação de glicose e produção de etanol do papelão. Por meio de análise de variância, verificou-se que a relação sólido:líquido foi a variável de maior significância, com efeitos linear e quadrático significativos, enquanto a concentração de NaOH apresentou apenas o efeito quadrático significativo.

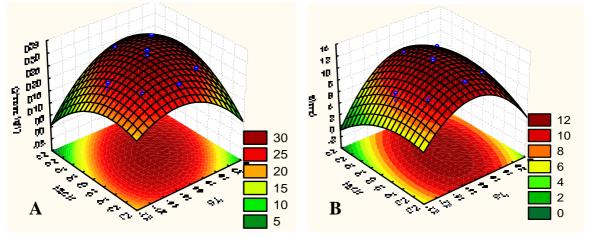


Figura 1. Superfície de resposta da liberação de glicose (A) e produção de etanol (B) a partir de hidrolizado do papelão.

Conclusão: Com auxílio da ferramenta Desirability, conclui-se que a concentração ótima de NaOH é de 2,64 % e relação S:L 1:16, resultando em uma liberação de glicose de 31 g/L na pré-hidrólise.

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DA BIOMASSA DE CANA-DE-AÇÚCAR PARA AVALIAÇÃO DE SUA VIABILIDADE À PRODUÇÃO DE BIOETANOL

<u>Danielle Szczerbowski</u>, Ana Paula Pitarelo, Arion Zandoná Filho e Luiz Pereira Ramos

Universidade Federal do Paraná, Departamento de Química; Av. Cel. Francisco H. dos Santos, s/n, 81531-980, Curitiba, PR, Brasil.

e-mail: lramos@quimica.ufpr.br

Objetivo: Avaliação da composição química da palha e do bagaço de canade-açúcar para suas susceptibilidades à produção de bioetanol de segunda geração.

Métodos: O teor de extraíveis presentes na biomassa foi determinado em aparelho Soxhlet, utilizando uma sequência de solventes em ordem crescente de polaridade, sendo que os extraíveis também foram posteriormente analisados por espectrometria no infravermelho. Os componentes macromoleculares (celulose, hemiceluloses e lignina) foram determinados pelo método de Klason e a lignina solúvel em ácido através de espectroscopia no ultravioleta. A análise dos hidrolisados de Klason foram realizadas por cromatografia de troca iônica e a quantificação foi feita por padronização externa. O teor de cinzas foi determinado segundo a norma TAPPI T211 om-93.

Resultados: Os resultados obtidos para a composição química da palha e do bagaço se encontram na Tabela abaixo

Componente	Palha(%)	Bagaço(%)
Celulose	37,38±0,10	38,39±0,13
Hemiceluloses	$30,03\pm0,15$	$26,02\pm0,06$
Lignina	18,45±0,22	21,04±0,26
Cinzas	$6,23\pm0,22$	$6,60\pm0,05$
Extrativos	$7,04\pm0,04$	4,11±0,05
Total	99,13	96,16

O teor de celulose na palha e no bagaço foi semelhante. Porém, a palha apresenta um teor de hemiceluloses 15% superior ao do bagaço. Evidências preliminares indicam que as hemiceluloses da palha são menos acetildas do que

as do bagaço. O teor inferior de lignina na palha fornece informações interessantes para fins de produção de bioetanol, devido sua íntima relação estrutural com a celulose. Finalmente, a quantidade de extraíveis presentes na palha e no bagaço foi diferente, porém suas respostas a espectrometria no infravermelho foram equivalentes.

Conclusão: Com alto teor de glucanas (celulose) e um baixo teor de lignina, conclui-se que a palha e o bagaço são boas opções para a produção de bioetanol. No entanto, o alto teor de hemiceluloses pode oferecer dificuldades adicionais a fermentação alcoólica.

EFFECT OF ULTRASOUND ON THE KINETICS OF FILTER PAPER HYDROLYSIS WITH A CELLULASE/β-GLUCOSIDASE/HEMICELLULASE MIXTURE.

Marcos H. L. Silveira¹; Larissa da Silva¹ and Jürgen Andreaus¹*.

¹Department of Chemistry, Regional University of Blumenau, 89010-971, Blumenau, Brazil.

E-mail: jandr@furb.br

Objective: The objective of this work was to evaluate the effect of ultrasound on the kinetics of filter paper hydrolysis and on the ratio of endo and exoglucanase activities during the reaction with a cellulase/ \Box -glucosidase/hemicellulase mixture.

Methods: Hydrolysis experiments were carried out for 60 minutes with 50 mg of Whatman filter paper N°1 as substrate, 500 μL enzyme and 1000 μL acetate buffer (0,1M; pH 5,0), in test tubes at 50°C, in an ultrasound bath with temperature control without and with ultrasound sonification (25kHz and 37kHz). In the experiments a mixture of cellulase, \Box -glucosidase and hemicellulase (Novozymes) in the proportion 90,25/4,75/5,0 (w/w) was used. Filter paper activities (FPAse_{total}, FPAse_{soluble} and FPAse_{Insoluble}) were determined by the DNS method (Ghose, 1987) and as described before (Silveira et al, 2009). Total filter paper activity, as proposed by Ghose (1987) is the sum of cellobiohydrolase activity (CBH) + \Box -glucosidase activity (\Box -G), determined as FPAse_{soluble}, and endoglucanase activity (EG), calculated from the difference of the above activities as FPAse_{insoluble}.

Results: The formation of soluble reducing sugars increased significantly with the use of ultrasound. The highest FPAse_{total} $(46,26 \pm 1,88 \text{ IU.mL}^{-1})$ and FPAse_{soluble} $(37,83 \pm 2,98 \text{ IU.mL}^{-1})$ values were obtained with ultrasound sonification at a frequency of 37kHz. FPAse_{insoluble} was highest $(16,43 \pm 3,04 \text{ UI.mL}^{-1})$ without sonification. The relative enzyme activities under the different hydrolysis conditions are shown in *Table 1*.

Table 1. Proportion of different FP activities with respect to total FPA (UI/mL) and activity increase in % due to ultrasound action (37kHz and 25kHz).

				Activity	Activity
				increase (%)	increase (%)
ACTIVITY	Without US	37kHz	25kHz	by 37kHz	by 25kHz
%EG of FPAse _{Total}	51,04	18,23	29,61	-6,40	-3,33
$%(CBH + \Box -G)$ of					
$FPAse_{Total}$	45,61	85,26	70,39	17,66	10,72
		142,1	128,7		
FPAse _{Total}	100,00	8	0	11,26	7,40

The major increases for FP activities for the hydrolysis reaction were found at 37kHz ultrasound sonification. Apparent EG activity (FPAse_{Insoluble}) decreased with the use of ultrasound.

Conclusion: Ultrasound sonification enhanced filter paper hydrolysis with cellulases. Until 30 min of hydrolysis 25kHz sonification showed highest formation of reducing soluble sugars, whereas for longer hydrolysis 37kHz ultrasound was superior.

References: Ghose, K. T. *Pure and Applied chemistry*. Vol. 59 n°2, p. 257-268. **1987.** Silveira, M. H. L., Rau, M., Andreaus, J. *Analytical Biochemistry*, submitted, **2009**.

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DA BIOMASSA RESIDUAL DA INDÚSTRIA DE CELULOSE PARA A PRODUÇÃO DE BIOETANOL

Neumara Luci Conceição Silva, Gabriel Jaime V. Betancur e Nei Pereira Jr.*

Universidade Federal do Rio de Janeiro – Depto. de Engenharia Bioquímica – Laboratório de Desenvolvimento de Bioprocessos Caixa Postal 21949-900 Rio de Janeiro – RJ - *E-mail: nei@eq.ufrj.br

Objetivo: O presente trabalho objetivou avaliar o potencial da biomassa residual (PM3) da indústria de celulose para a produção de bioetanol através do processo SSF (*Simultaneous Saccharification and Fermentation*), bem como comparar seu potencial com o da polpa coletada após cozimento (PM1) e o da polpa coletada após a etapa de deslignificação (PM2) na produção de pasta de celulose.

Metodologia: O processo SSF foi realizado em frascos agitados com fermentômeros acoplados, na relação sólido:líquido 1:4 e utilizando uma concentração celular de 2 g/L. O processo foi mantido a uma temperatura de 37°C e sob agitação de 200 rpm. Anteriormente ao processo SSF, realizou-se uma pré-hidrólise enzimática com carga enzimática de 32 FPU/g (Enzima Multifect), 12h de duração e sob temperatura de 47°C. O microorganismo fermentador utilizado foi a estirpe comercial da levedura *Saccharomyces cerevisiae* (Fleischmann). Com o propósito de calcular a concentração de etanol equivalente, registrou-se a perda de peso dos sistemas de fermentação, através da pesagem dos frascos em intervalos de tempo apropriados. E ao final do processo, cada amostra foi analisada para determinar a concentração de açúcares e etanol em HPLC.

Resultados: Após 12h de pré-hidrólise enzimática, a concentração de glicose foi de 102,7 g/L para PM 1, 100,5 g/L para PM 2 e 83,5 g/L para PM 3. E após 96 h de processo de SSF foi obtido uma concentração de etanol de 70,3 g/L com PM 1, 78,8 g/L com PM 2 e 71,2 g/L com PM 3.

Conclusão: Baseado nos experimentos realizados, pode se concluir que as fibras de celulose residuais da indústria de celulose apresenta grande potencial para a produção de etanol de segunda geração por via biotecnológica.

HIDROLISE ENZIMATICA DE BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR E FERMENTAÇÃO POR DIFERENTES LINHAGENS DE LEVEDURA FERMENTADORAS DE PENTOSE E HEXOSE.

Davi L. Gonçalves; Adriane Mouro; Carlos A. Rosa; Bóris U. Stambuk Centro de Ciências Biológicas, Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Santa Catarina; Bairro Trindade, 88040-970 - Florianópolis-SC, Brasil

Objetivos: Produzir hidrolisados enzimáticos a partir de bagaço de cana-de-açucar e submetêlos a testes fermentativos a fim de avaliar o desempenho de diferentes cepas com relação à velocidade de consumo dos açúcares e a produção de etanol.

Métodos: Foram utilizadas linhagens de levedura S. cerevisiae industriais (CAT-1 e PE-2) e de leveduras com capacidade de fermentar xilose: HM19.1a (Spathaspora arborariae); IHM 43.2 (Pichia stipitis); HM43.2 (Candida shehatae); HM52.2 (Candida shehatae), estes quatro últimos foram isolados obtidos da UFMG. Estas cepas foram pré-crescidas em meio YPD 2% ou YPX 2%. Realizam-se os testes de fermentação em batelada e/ou batelada alimentada com reciclo de células, utilizando hidrolisado enzimático como meio fermentativo. Os hidrolisados de bagaço de cana foram obtidos após um pré-tratamento da biomassa por explosão a vapor, seguido da hidrólise enzimática utilizando-se um coquetel de celulases e β-glicosidases obtidos dos fungos Trichoderma reesei RUT C30 e Aspergillus awamori. Foi utilizada uma carga enzimática de 10 BGU/mL e 1FPU/mL em tampão citrato de sódio 50mM. As hidrolises enzimáticas foram conduzidas em erlenmayers por 48 horas à 50□C sob agitação constante (200rpm). As fermentações foram conduzidas à 28°C e 160 rpm, onde foram retiradas amostras ao longo das fermentações para análise de densidade ótica, açúcares, viabilidade celular e etanol. As dosagens enzimáticas foram feitas pelo método de Ghose, 1987 (IUPAC). As dosagens de glicose foram feitas usando kits comerciais, as dosagens de açúcares redutores foram feitas pelo método de Miller, 1959 e o etanol produzido foi determinado pela reação enzimática com álcool oxidase e peroxidase e lido em espectrofotômetro. Para o teste de viabilidade foi utilizado o método de Sami 1994, com azul de metileno como corante. Não foram adicionados sais ou nutrientes ao hidrolisado nem ajustado o pH para as fermentações.

Resultados: Os hidrolisados obtiveram valores em torno de 18g/L para glicose, 30g/L para açúcares redutores totais e pH de 5,13. Os resultados das fermentações podem ser visualizados na tabela abaixo:

Potencial Fermentativo	Hexoses			Hexoses e Xilose			
Cepas	PE-2	CAT-1	HM19.1a	IHM 43.2	HM 43.2	HM 52.2	
Batelada Smples	Sm	Sm	Sm	Sm	Sm	Sm	
Reciclos celulares	Sm	Não	Sm	Não	Não	Sm	
Tempo* (horas)	2	2	7	6	6	7	
Pico de etanol (g/L)	5,2	4,3	12,2	7	7,5	10,3	

^{*} Tempo necessário para o consumo de todo o acúcar fermentescivel do meio

Conclusão: Todas as cepas foram capazes de fermentar o hidrolisado com consumo total dos açúcares fermentescíveis e bons picos de etanol mesmo após vários reciclos celulares. A viabilidade se manteve acima de 97% ao longo dos reciclos.

AVALIAÇÃO DE DIFERENTES LINHAGENS DE Pichia stipitis NA FERMENTAÇÃO DO HIDROLISADO HEMICELULÓSICO DE BAGAÇO DE MALTE

Daniely Garcia; Renata Alves de Brito; Inês Conceição Roberto.

Departamento de Biotecnologia, Escola de Engenharia de Lorena, USP Estrada Municipal do Campinho, s/n, 12.602-810 - Lorena - SP, Brasil.

E-mail: d.garcia@debiq.eel.usp.br

Objetivo: O objetivo deste trabalho foi avaliar a produção de etanol a partir do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de malte (HHBM) proveniente da indústria cervejeira por três diferentes linhagens de *Pichia stipitis*.

Métodos: O bagaço de malte foi submetido à hidrólise ácida com H₂SO₄ em reator de 50L a 120 °C por 17 minutos. O hidrolisado hemicelulósico obtido continha: 8 g/L de glicose; 24,6 g/L de xilose, 11,6 g/L de arabinose e 1,8 g/L de ácido acético. O meio de fermentação foi preparado com o hidrolisado concentrado contendo 50 g/L xilose, o qual foi suplementado com 3 g/L de extrato de levedura. Os ensaios foram realizados com 3 linhagens de *P. stipitis* provenientes do NRRL (Y-7124; Y-11542 e Y-11543). Frascos de 250 mL contendo 100 mL do meio de fermentação (pH = 5,5), foram inoculados com 1g/L de células e incubados em agitador rotatório a 30°C e 200 rpm, por 96 horas. Açúcares e etanol foram determinados por cromatografia líquida de alto desempenho (CLAE) e a concentração celular por espectrofotometria (DO_{600nm}).

Resultados: Na Tabela 1 são apresentados os resultados referentes aos parâmetros de fermentação das diferentes linhagens de *P. stipitis* em hidrolisado de bagaço de malte.

Tabela 1 - Fermentação do hidrolisado do bagaço de malte (50 g/L de xilose) por diferentes linhagens de *Pichia stipitis*.

Linhagem	Parâmetros Fermentativos					
Limagem	$Y_{P/S}(g/g)$	$Y_{x/S}(g/g)$	$Q_{P}(g/Lh)$	$Q_{S}(g/Lh)$	Etanol(g/L)	
Y-7124	0,38	0,18	0,30	0,79	21,9	
Y- 11542	0,31	0,14	0,19	0,55	18,45	
Y-11543	0,33	0,16	0,17	0,60	19,54	

 $Y_{X/S}$ = fator de conversão de substrato em células; $Y_{P/S}$ = fator de conversão de substrato em etanol, Q_P = produtividade volumétrica em etanol; Q_S = velocidade de consumo de xilose

Conclusão: A linhagem de *P.stipitis* NRRLY-7124 foi a que apresentou os melhores resultados de produção de etanol em HHBM quando comparada com linhagens NRRLY-11542 e 11543. O bagaço de malte é um subproduto industrial de grande potencial para aproveitamento em processos biotecnológicos, visando à produção de etanol a partir de xilose.

Agradecimentos: CNPq, CAPES e FAPESP.

AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE ETANOL E XILITOL POR CONSÓRCIOS MICROBIANOS EM MEIO SEMI-SINTÉTICO

Ana R. Cassales; Priscila Souza-Cruz; Marco A. Z. Ayub

Departamento de Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; Av. Bento Gonçalves 9500, – Porto Alegre – RS, Brasil.

Email: anacassales@gmail.com

Objetivo: O objetivo desde trabalho foi avaliar a capacidade de produção de etanol e xilitol por consórcios de microrganismos (leveduras e bactérias) em meio semi-sintético com teores de glicose, xilose e arabinose semelhantes ao hidrolisado concentrado obtido a partir da casca de soja.

Metodologia: Três consórcios foram cultivados em meio semi-sintético contendo glicose (9,1 g/L), arabinose (10,8 g/L), xilose (18,7 g/L), peptona (10 g/L) e extrato de levedura (5 g/L). Os microrganismos foram combinados conforme indicado na tabela:

Consórcio 1	S.c	C.t	C.u	C.k	C.g	C.s	
Consórcio 2	Z.m	C.t	C.u	C.k	C.g	C.s	
Consórcio 3	S.c	Z.m	C.t	C.u	C.k	C.g	C.s

(S.c) Saccharomyces cerevisia, (C.t) Candida tropicalis, (C.u) Candida utilis, (C.k) Candida kefyr, (C.g) Candida guilliermondi, (C.s) Candida silvícola e (Z.m) Zymomonas mobilis

Os cultivos foram incubados em agitador orbital (100 rpm) a 30°C por 6, 12, 24, 36, 48 e 54 horas em condições microaerófilas. O experimento foi conduzido em duplicata. As amostras retiradas foram submetidas à centrifugação para determinação da biomassa seca. O acompanhamento do consumo dos açúcares foi avaliado inicialmente no sobrenadante pelo método de detecção de açúcares redutores (DNS). Posteriormente essas amostras foram analisadas por CLAE para quantificação de glicose, xilose, arabinose, etanol e xilitol.

Resultados: O consumo de açúcares e a produção de etanol nos consórcios 1, 2 e 3 foram de 28,8% e \pm 9 g/L , 72% e \pm 13 g/L e 31,8% e \pm 8 g/L respectivamente, após 54 horas de cultivo. A produção de xilitol foi baixa em todos os consórcios, chegando a 4 g/L no consórcio 3.

Conclusão: Dentre os consórcios avaliados o composto por *Z. mobilis, C. tropicalis, C. utilis, C. kefyr, C. guilliermondi* e *C. silvicola* apresentou melhores resultados com relação ao consumo de açúcares e produção de etanol. Todavia uma otimização das condições de cultivo se faz necessária para obtenção de melhores resultados.

OTIMIZAÇÃO DA HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DA BIOMASSA RESIDUAL DA INDÚSTRIA DE CELULOSE

Neumara Luci Conceição Silva, Roberto Nobuyuki Maeda, Nei Pereira Jr.* Universidade Federal do Rio de Janeiro — Depto. de Engenharia Bioquímica — Laboratório de Desenvolvimento de Bioprocessos Caixa Postal 21949-900 Rio de Janeiro — RJ - *E-mail: nei@eq.ufrj.br

Objetivo: O presente trabalho objetivou otimizar a hidrólise enzimática das fibras celulósicas residuais (PM3) da indústria de celulose, bem como comparar seu potencial como fonte de açúcares com o da polpa coletada após o cozimento (PM1) e o da polpa coletada após a etapa de deslignificação (PM2).

Metodologia: Para a otimização da hidrólise enzimática realizou-se um planejamento central composto para as biomassas PM1, PM2 e PM3, avaliando os efeitos da relação sólido:líquido (1:11-1:4 g:mL) e da carga enzimática (7,0 - 28,0 FPU/g sólido) sobre a concentração de açúcares redutores totais (ART) liberados, incluindo glicose. A hidrólise enzimática foi conduzida a 47°C, 200 rpm e pH 5,0, utilizando celulases comerciais Multifect (com 100 FPU/g de atividade enzimática). Para construção dos perfis cinéticos da hidrólise enzimática de cada biomassa, foram coletadas amostras em intervalos de tempo apropriado. Tais amostras foram submetidas à avaliação colimétrica por DNS (Ácido 3,5 Dinitrosalicilico) e à análise em HPLC para quantificação de açúcares.

Resultados: A máxima concentração de glicose obtida para PM1, PM2 e PM3 foi, respectivamente, 96,0, 95,6 e 80,6 g/L. A concentração de glicose está diretamente relacionada ao teor de sólido, sofrendo influência secundária da carga enzimática utilizada

Conclusão: Por conseguinte, a celulose presente na biomassa residual da indústria de celulose constitui uma excelente fonte de carboidratos para a formação de diversas substâncias químicas e bioquímicas dentro do conceito de biorrefinaria, dentre elas o bioetanol.

STUDIES ON THE HYDROLYSIS OF LIGNOCELLULOSIC RESIDUES AND CONCOMITANT CELLULASE ADSORPTION.

<u>Jürgen Andreaus</u>*, Marcos H. L. Silveira; Larissa da Silva; Andrezza M. Pascoalin.

Dept. of Chemistry, Regional University of Blumenau, 89010-971, Blumenau, Brazil.

E-mail: jandr@furb.br

Objective: The objectives of this work were to study the adsorption of cellulases on sugar-cane bagasse and the hydrolysis of sugar cane bagasse and cotton residue from textile processing with cellulases.

Methods: *T. reesei* cellulases were adsorbed to pretreated (steam exploded) sugar cane bagasse at 50°C, pH 5.0 and two different agitation levels (orbital, vertical). Adsorption was monitored by analyzing soluble protein and enzyme activity in solution. Hydrolysis of sugar cane bagasse was carried out with cellulases from *Acrophialophora nainiana* grown on 4 different carbon sources at pH 5.0 and 50°C for 24h. A lignocellulosic residue from textile processing of cotton was hydrolyzed (48 h) with a cellulose/β-glucosidase/hemicellulase mixture varying process parameters such as enzyme load, surfactant concentration and agitation level. Furthermore the influence of ultrasound sonification on cellulose hydrolysis with an enzyme mixture was evaluated. In the hydrolysis experiments enzyme activities on Whatman filter paper N°1 (Silveira, 2009) and reducing sugar and glucose formation were monitored.

Results: Protein adsorption of *T. cellulases* to sugar cane bagasse was higher with orbital than vertical agitation. Up to 80% of initial protein was adsorbed. All *A. nainiana* preparations grown on different C-sources showed high pectinase and xylanase activities, however, the highest CMCase activity and the highest conversion of sugar cane bagasse into soluble reducing sugars was obtained with banana stem grown enzymes. The hydrolysis of a lignocellulosic residue from cotton processing with a cellulose/ β -glucosidase/hemicellulase mixture was positively affected by a nonionic surfactant at low enzyme load and high agitation levels. Ultrasound sonification increased the hydrolysis of filter paper and the formation of reducing soluble sugars.

Conclusions: The hydrolytic potential of cellulase preparations for lignocellulosic residues is greatly influenced by the selection of the agroindustrial waste used as C-source. Process parameters such as agitation level, surfactant concentration and enzyme load have a striking influence on cellulase / substrate adsorption and the hydrolysis of cellulosic and lignocellulosic materials.

References: Silveira, M. H. L., MasterThesis, Universidade Regional de Blumenau, **2009**.

AVALIAÇÃO DA SUSCEPTIBILIDADE DO BAGAÇO DE CANA AO PRÉ-TRATADO A VAPOR E HIDRÓLISE ENZIMÁTICA

Ana Paula Pitarelo, Arion Zandoná Filho e <u>Luiz Pereira Ramos</u> Universidade Federal do Paraná, Departamento de Química - Centro Politécnico, Jardim das Américas - Curitiba, PR, Brasil.

E-mail: lramos@quimica.ufpr.br

Objetivo: Avaliar a susceptibilidade à hidrólise enzimática dos substratos obtidos após o pré-tratamento a vapor do bagaço de cana, na ausência (autohidrólise) e na presença de ácido fosfórico (H_3PO_4).

Métodos: O pré-tratamento do bagaço foi realizado sob diferentes condições (195-210°C, 4-8min), de acordo com planejamentos fatoriais com triplicatas no ponto central. Nestes experimentos, amostras de bagaço contendo 50% de umidade foram pré-tratadas com e sem impregnação ácida (19 e 38mg ácido/g de bagaço seco). A caracterização química do bagaço nativo e pré-tratado foi baseada no método de Klason (lignina insolúvel em meio ácido), seguido de análise dos hidrolisados por cromatografia de troca iônica (CTI). A quantificação dos analitos foi efetuada por padronização externa. A hidrólise enzimática dos substratos (45°C, 150 rpm) foi realizada em suspensão contendo 2% (base seca) do substrato, ao qual foi adicionada uma mistura de Celluclast 1.5L e Novozym 188[®] (Novozymes) com atividade celulásica de 15 UPF/g e celobiásica de 13,5 UCB/g de substrato e a análise dos hidrolisados também foi realizada por CTI.

Resultados: A impregnação com ácido fosfórico resultou no aumento do percentual de recuperação dos carboidratos presentes no bagaço, em rendimentos praticamente quantitativos, quando comparados experimentos de auto-hidrólise. Além disto, o emprego de ácido fosfórico produziu substratos com elevada susceptibilidade à hidrólise enzimática. Neste caso, o aumento da temperatura e do tempo de pré-tratamento não influenciou o rendimento de hidrólise tanto quanto nos experimentos de autohidrólise. Os resultados obtidos, independentemente da concentração do ácido fosfórico, foram de quase 100% de hidrólise da celulose em 72 h de reação, sendo que, em 8 h de reação, 80% da celulose presente no substrato já tinham sido hidrolisadas à glucose e celobiose. Este fato não foi observado nos experimentos de auto-hidrólise, que proporcionaram rendimentos de hidrólise não superiores a 67% em 8 h de reação.

Conclusão: A utilização de ácido fosfórico no pré-tratamento propiciou a produção de materiais celulósicos de alta acessibilidade, paralelamente aos melhores índices de recuperação dos componentes do bagaço. Portanto, a catálise fosfórica pode ser considerada uma alternativa viável para a produção de bioetanol a partir do bagaço de cana.

ESTUDO DE VARIÁVEIS QUE INFLUENCIAM O PROCESSO DE SACARIFICAÇÃO ENZIMÁTICA DO BAGAÇO DA CANA

<u>Liliane P. Andrade</u>, Henrique M. Baudel, José Augusto T. R. Tomé e Célia M. A. Galvão¹

Centro de Tecnologia Canavieira (CTC) – Fazenda Santo Antônio, S/N, Caixa Postal 162 – CEP 13400-970 – Piracicaba/SP.

E-mail: celia@ctc.com.br

Objetivo: O objetivo deste trabalho foi estudar a influência de variáveis que afetam diretamente o processo de sacarificação do bagaço de cana como, por exemplo, a variabilidade da matéria-prima produzida em ambiente industrial sob idênticas condições experimentais, a estratégia de hidrólise (batelada e deslocamento de licor), o tipo de agitação a que o sistema hidrolítico foi submetido (shaker com agitação lateral e agitação mecânica) e presença de surfactante. Nesses ensaios foi utilizado um coquetel enzimático constituído por Celluclast 1.5L e Novozym 188.

Métodos: Os bagaços pré-tratados foram produzidos industrialmente utilizandose o método de explosão a vapor, a partir da variação da pressão do sistema e do tempo de pré-tratamento. Em seguida, as amostras foram caracterizadas, principalmente, quanto aos teores de celulose, hemicelulose e lignina. As reações de hidrólise enzimática foram realizadas a 50°C e pH 4,8, 150rpm, 48 horas, 8% de sólidos totais, 5FPU/g-celulose de Celluclast 1.5L e 0,5% de Novozym 188 (p/p - em relação ao teor de celulose de cada substrato). Amostras dos caldos hidrolisados foram analisadas por HPLC (Metrohm, Suíça) para identificação e quantificação dos carboidratos de interesse (glicose, xilose, celobiose e arabinose).

Resultados: Bagaços pré-tratados produzidos industrialmente sob mesmas condições experimentais, mesmo apresentando resultados semelhantes de análise composicional, mostraram ter características diferentes quanto à estrutura, conferindo alto grau de complexidade ao processo. Quando o sistema hidrolítico foi conduzido na presença de surfactante, via agitação mecânica e com deslocamento de licor após 24hs de reação, conversões de celulose em glicose monomérica superiores a 40% foram obtidas.

Conclusões: A análise composicional realizada em bagaços pré-tratados não é suficiente para garantir que amostras produzidas em condições idênticas são, de fato, idênticas. As variáveis estratégia de hidrólise, tipo de agitação e presença de surfactante mostraram ser altamente correlacionadas e influenciar significativamente o processo de sacarificação do bagaço. Por esta razão, uma avaliação individual da influência de cada uma dessas variáveis sobre o sistema aqui estudado não é trivial.

EFEITO DE DIFERENTES PRÉ-TRATAMENTOS NO RENDIMENTO DA HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DE BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR

Rafael E. Martins¹; Guilherme S. de Moraes²; Claudia R. Silva¹; Mary L. Faria².

E-mail: rafael@ufscar.com.br

Objetivo: O objetivo deste trabalho foi avaliar dentre três métodos de prétratamento (explosão a vapor, alcalino e ácido diluído) qual o mais eficiente para promover uma maior conversão de polissacarídeos do bagaço de cana-de-açúcar a açúcares fermentáveis durante a hidrólise enzimática.

Método: Primeiramente foi feita a lavagem do bagaço de cana-de-açúcar com água destilada a 75°C para remoção de sacarose remanescente do processo industrial. Posteriormente foram realizados os seguintes prétratamentos: explosão a vapor com água destilada, tratamento alcalino com NaOH 4%, tratamento com H₂SO₄ 1,0% e com H₃PO₄ 4%. Em todos os pré-tratamentos foram utilizadas as seguintes condições: razão bagaço/água 1:20 (wt/wt), em autoclave a 120°C por um período de 15 minutos. Após o procedimento descrito acima, a biomassa resultante foi neutralizada e lavada com água destilada em abundância e seca em estufa a ± 60°C até peso constante. O bagaço tratado foi hidrolisado utilizando o preparado enzimático NS50013 da Novozymes. A reação prosseguiu por 24 horas a 50°C em agitação constante. Os acúcares fermentáveis liberados na hidrólise foram quantificados pelo método DNS em comprimento de onda de 540nm. Para efeito de comparação, todo o procedimento experimental descrito acima foi realizado com uma amostra de bagaço de cana-de-açúcar sem nenhum pré-tratamento (branco).

Resultados: Obteve-se uma conversão de 21,9%, 24,5%, 91,7%; 65,4% e 80%, para o branco, explosão a vapor, NaOH 4%, H₂SO₄ 1,0% e H₃PO₄ 4%, respectivamente.

Conclusão: Os resultados obtidos demonstram que o pré-tratamento mais eficiente foi o de explosão à vapor com NaOH 4%.

^{1.} Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de São Carlos, Rodovia Washington Luís, km 235-SP-310, São Carlos, SP, Brasil, CEP 13565-905.

² Fundação Educacional do Município de Assis–FEMA/IMESA, Avenida Getúlio Vargas, 1200, Vila Nova Santana, Assis, SP, CEP 19807-634.

HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR APÓS PRÉ-TRATAMENTO A VAPOR E/OU EXTRAÇÃO ALCALINA

<u>Ana Paula Pitarelo</u>; Luiz A. Bortolli Jr. e Luiz Pereira Ramos Universidade Federal do Paraná, Departamento de Química; Avenida Francisco Ferreira H. dos Santos, Curitiba, PR, Brasil.

E-mail: <u>lramos@quimica.ufpr.br</u>

Objetivo: Avaliar a susceptibilidade à hidrólise enzimática do bagaço de cana pré-tratado a vapor, na presença ou ausência de catalisador ácido (ácido sulfúrico, H₂SO₄ ou ácido fosfórico, H₃PO₄).

Métodos: O pré-tratamento a vapor foi realizado a 210°C por 4 min utilizando bagaço com 50% de umidade sem (auto-hidrólise) e com impregnação com H_2SO_4 ou H_3PO_4 (9,5 mg ácido/g de bagaço seco). O bagaço pré-tratado foi submetido a dois processos de lavagem: com água, para a remoção dos compostos solúveis, e com água e álcali (hidróxido de sódio 1 mol.L⁻¹ sob refluxo por 1 h), para a remoção da lignina. Os materiais não lavado, lavado com água e o lavado com água e álcali foram submetidos a uma condição padrão de hidrólise enzimática (2% de substrato seco, 72 h de reação e 150 rpm a 45°C), empregando uma mistura de Celluclast[®] 1.5L FG e Novozym[®] 188 (Novozymes) com diferentes atividades enzimáticas (8, 15, 24 UPF/g de substrato). Os resultados foram obtidos por cromatografia a líquido de alta eficiência (CLAE) e a quantificação foi efetuada por padronização externa.

Resultados: O pré-tratamento a vapor associado à catálise fosfórica forneceu uma maior seletividade para a hidrólise dos polissacarídeos do bagaço, gerando, por conseqüência, um maior rendimento em carboidratos e um menor acúmulo de inibidores decorrentes da desidratação de monossacarídeos. Por outro lado, a extração alcalina forneceu os substratos de maior susceptibilidade à hidrólise enzimática, cuja velocidade inicial de sacarificação foi aumentada significativamente em comparação aos demais substratos. Outros fatores não menos importantes foram o aumento da atividade enzimática e o tipo de catalisador ácido empregados. A diminuição da carga enzimática proporcionou um menor percentual de conversão do material para todos os substratos estudados. O melhor catalisador foi o H₃PO₄, que proporcionou rendimentos de >99% (24 UPF), 82% (15 UPF) e 47% (8 UPF) em 24 horas de hidrólise.

Conclusão: O pré-tratamento a vapor com catálise fosfórica, seguido de extração com álcali diluído, forneceu os substratos de maior susceptibilidade à hidrólise enzimática devido, particularmente, a uma maior seletividade na remoção da lignina e polioses. Estes dados justificam a avaliação deste procedimento como uma alternativa de grande potencial para viabilizar a produção de etanol a partir do bagaço de cana.

COMPARAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DE BAGAÇO DE CANA PRÉ-TRATADO PARA TRÊS FORMAS DE OPERAÇÃO EM BATELADA

<u>Mirella Cappellazzo</u>, Camila Garcia Baldin, Letícia de Souza Zarpellon, Gisella Maria Zanin e Flávio Faria de Moraes

Departamento de Engenharia Química, Universidade Estadual de Maringá; Av. Colombo, 5790, BL E46; CEP: 87020-900 - Maringá - PR, Brasil.

E-mail: micapelasso@hotmail.com

Objetivo: Neste estudo, foi investigada a eficiência de três formas de operação de reator batelada para a hidrólise enzimática de bagaço de cana de açúcar pré-tratado por explosão a vapor lavado visando à produção de glicose. O reator tipo batelada alimentada e o modelo de bateladas consecutivas, com aproveitamento do hidrolisado para readsorção da enzima, tiveram seus desempenhos comparados ao reator batelada convencional.

Métodos: No modelo batelada alimentada a carga total de bagaço pré-tratado foi dividida em n frações, que foram adicionadas em n intervalos de tempo, iguais ao tempo total de hidrólise dividido por n, sem a remoção dos resíduos não-hidrolisáveis. Enquanto no sistema bateladas consecutivas, passado um determinado tempo t de reação, o hidrolisado foi esgotado de cada batelada, e colocado em contato com nova porção de bagaço pré-tratado fresco, visando à readsorção da enzima. O bagaço em suspensão no hidrolisado, contendo a enzima adsorvida, foi separado da solução de açúcares por filtração a vácuo e após, submetido a uma nova batelada de hidrólise, sem a adição de mais enzima. A comparação foi feita em termos de glicose produzida, que poderia ser posteriormente fermentada a etanol. Um sistema enzimático contendo celulase e β-glicosidase produzidas por *Trichoderma reesei* Rut-C30 e *Aspergillus awamori*, respectivamente, foi utilizado na hidrólise enzimática.

Resultados: A velocidade de sacarificação foi maior nas primeiras 24 horas de reação, nas quais se produziu mais da metade da glicose total. Os modelos alternativos, ao reator batelada convencional, foram testados motivando-se nas premissas de que suas formas de operação causariam menor inibição da reação de hidrólise, pela alimentação gradativa do substrato e separação do xarope produzido do resíduo de sólido não reagido, consequentemente atingindo maior ganho na produção de glicose, para um mesmo tempo de reação.

Conclusão: o modo de operação do reator como batelada convencional foi o mais eficiente de que os modos de operação como batelada alimentada e bateladas consecutivas, alcançando uma maior produção de glicose, nas condições testadas.

ENZYMATIC HYDROLYSIS OF wheat straw FOR bioethanol production USING membrane reactors

M. Céu Sàágua, Belina Ribeiro¹, Susana M. Paixão¹, Lina Baeta-Hall¹, Joana Pereira¹, Ana M. Anselmo¹ and José C. Duarte¹

LNEG - UBioenergia, Estrada do Paço do Lumiar, 22, 1649-038 Lisboa, Portugal

E-mail: jose.duarte@ineti.pt

Aims: The optimization of enzymatic hydrolysis of wheat straw biomass pre-treated using mixtures of commercial cellulase enzymes, for ethanol production on a MBR type bioreactor.

Methods and Results: Wheat straw biomass pre-treated at 205°C and 215°C (auto-hydrolysis), without hemicellulosic fraction and containing 55 g/l and 61 g/l of polysaccharides, respectively, was used for enzymatic hydrolysis using mixtures of commercial cellulase enzymes (Celluclast 1.5 L and Novozyme 188) at different conditions. The influence of different parameters such as temperature (35-60°C), time (1-7 days) and enzyme loading (10-15 FPU/g polysaccharides) during the bioconversion process were assessed to evaluate process effectiveness. The optimisation criterion is the fermentable sugar yields, which were analysed by HPLC.

The best results for the wheat straw hydrolysis were obtained using a mixture of celluclast 10 FPU/g polysaccharides and Novozym 188 0.2 mL/g polysaccharides, at 55°C with 150 rpm during 48h.

Prior assays using a MBR type bioreactor were carried out for a *Saccharomyces cerevisiae* strain (strain F isolated in our lab) with a synthetic medium with two different concentrations of glucose, 50 g/L (148 h) and 100 g/L (96 h). The maximum productivity obtained were around 2 g/Lh and 5 g/Lh, respectively. Several assays are being carried out also in MBR bioreactors with the hydrolysate from wheat straw, with 50 – 100 g/L polysaccharides, using this yeast and a *Zymomonas mobilis* strain, as an ethanologenic bacterium.

Conclusions: *Zymomonas mobilis* and several *Saccharomyces cerevisiae* strains are being compared for their ability for ethanol production on a MBR type bioreactor.

Significance and Impact of the Study: a new type of process and rector are being developed that can contribute for maximising the ethanol productivity from waste lignocellulosic substrates.

Acknowledgments: FCT and the Biorefino project.

PARÂMETROS REACIONAIS PARA A SÍNTESE ENZIMÁTICA DO LAURATO DE ISOPROPILA EM MEIO ISENTO DE SOLVENTE ORGÂNICO

Priscilla de Souza Santana^{1,2}, Monna Lisa Barreto Queiroz^{1,2}, Cláudio Dariva^{1,2}, Alini Tinoco Fricks^{1,2}, Álvaro Silva Lima^{1,2}, Gisella M. Zanin³, Cleide M. F. Soares^{1,2}

¹Universidade Tiradentes Avenida Murilo Dantas, 300- Farolândia- 49032-490, Aracaju-SE-Brazil; ²Instituto de Tecnologia e Pesquisa-ITP, Prédio ITP Avenida Murilo Dantas, 300- Farolândia- 49032-490, Aracaju-SE E-mail: cleide mara@itp.org.br; ³Universidade Estadual de Maringa, Departamento de Engenharia Química, Av. Colombo 5790, E-46, 87020-900, Maringá-PR

Objetivo: O objetivo do presente trabalho foi avaliar a influência da temperatura e da concentração de enzima na conversão ácido láurico em laurato de isopropila utilizando como ferramenta o planejamento experimental.

Métodos: A atividade enzimática da enzima Lipase Candida rugosa (LCR) foi determinada por esterificação do ácido láurico com isopropanol, (OLIVEIRA, et al. 2006) com as modificações propostas neste trabalho. Foi realizado planejamento fatorial completo 2², com repetição no ponto central para avaliar a variável resposta, em função das seguintes variáveis: temperatura (52,2°C, 57,5°C e 62,5°C) e concentração de LCR no meio reacional (0,25%, 0,5% e 0,75% p/p). A atividade enzimática foi quantificada pelo consumo de ácido láurico na reação de esterificação entre o ácido láurico e o isopropanol com razão molar ácido-álcool de 3:1 na presença de 10% de peneira molecular (2.0 mm e diâmetro de poro de 0.4 nm). As reações foram conduzidas em reatores fechados de 100mL, contendo cerca de 5mL de substrato numa concentração fixa de ácido láurico (0,3 M) e isopropanol (0,1M). Foram coletadas alíquotas de 300µL, em quadruplicata, do meio reacional no tempo zero e após 10 minutos de reação, que foram diluídas em 20ml de acetona-etanol (1:1). A quantidade de ácido láurico consumido foi determinado por titulação com NaOH 0,1N, utilizando fenolftaleína como indicador. A conversão de esterificação foi expressa em percentual do ácido láurico consumido.

Resultados: As variáveis mais significativas na conversão do ácido laúrico foram a temperatura, sendo o resultado positivo representado pelo nível alto (+) $62,5^{\circ}$ C, e a interação da temperatura e a concentração da enzima. Dentro da região experimental avaliada, a concentração de enzima foi o fator menos significativo na conversão de ácido laúrico, mas devem ser operados no nível alto (+). De acordo com o estudo efetuado, a maior atividade de conversão ao laurato de isopropila foi de 30%, no seguinte parâmetro reacional: $62,5^{\circ}$ C e 0,75% (p/p) de LCR. Utilizando-se a metodologia de superfície resposta, obteve-se o seguinte modelo matemático para o rendimento de imobilização: $Y = 17,71+45,14X_1 + 3,97$ X_1 X_2 , onde X_1 e X_2 correspondem aos valores codificados para as variáveis temperatura e concentração de enzima, respectivamente.

Conclusão: O planejamento fatorial mostrou-se uma ferramenta eficiente para determinação do efeito das variáveis estudadas na síntese do laurato de isopropila. As maiores conversões foram obtidas, empregando 0,75% (p/v) de concentração da LCR a 62,5°C.

Referências: OLIVEIRA, D; FEIRHMANN, A. C.; DARIVA, C.; CUNHA, A. G.; BEVILAQUA, J. V.; DESTAIN, J.; OLIVEIRA, J. V.; FREIRE, D. G. *Journal of Molecular Catalysis. B, Enzymatic*, 39, 117-123, 2006.

SÍNTESE ENZIMÁTICA DE BIODIESEL SOB IRRADIAÇÃO DE MICRO-ondas via Etanólise DO ÓLEO DE PALMA

<u>Patrícia C. M. Da Rós</u>; Matheus B. A. Castro; Heizir F. de Castro Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo; Estrada Municipal do Campinho s/ n°, 12602-810 – LORENA-SP, Brasil.

E-mail: patriciadaros@dequi.eel.usp.br

Objetivo: No desenvolvimento de processos mais limpos e eficientes duas condições reacionais parecem bastante adequadas para as transformações químicas: reações enzimáticas em sistemas isentos de solventes e reações aceleradas sob irradiação de micro-ondas. Em função dessa demanda, o objetivo principal deste trabalho foi otimizar a etanólise do óleo de palma catalisada pela lipase de *Pseudomonas fluorescens* imobilizada em SiO₂-PVA sob irradiação de micro-ondas.

Materiais e Métodos: Os experimentos foram realizados em um reator de micro-ondas Discover (Cem Corporation) operando de forma monomodo, com agitação magnética e controle de temperatura por infravermelho. Um planejamento fatorial completo 2^2 foi utilizado para investigar a influência da temperatura (43; 50; 57°C) e razão molar etanol/óleo (8; 12; 16) no rendimento de transesterificação em 8h de reação. A análise estatística foi efetuada pelo programa Statistica versão 7.0.

Resultados: Os valores de rendimento de transesterificação variaram entre 62 a 86% e a análise estatística indicou que tanto a variável razão molar como a temperatura foram estatisticamente significativas, contatando-se ainda um efeito altamente significativo da interação entre essas variáveis. O modelo matemático proposto $\mathbf{Y} = 70,23-4,03.x_1-5,39.x_2+6,87.x_1.x_2$ permitiu prever as condições necessárias que favorecem o alcance de elevados rendimentos de transesterificação, sendo a reação maximizada (97,56%) para meios reacionais constituídos de óleo de palma e etanol numa razão molar de 1:8 e incubados a 43 °C. Esse resultado representa num incremento de 13 vezes na velocidade da reação efetuada sob aquecimento convencional.

Sistema de aquecimento	Tempo (h)	Rendimento de transesterificação (%)	Produtividade (mg biodiesel/g.h)
Irradiação de micro-ondas	12	97,56	64,18
Aquecimento convencional	72	48,30	4,94

Conclusão: A aplicação de irradiação micro-ondas como forma de aquecimento na transesterificação enzimática do óleo de palma com etanol constitui um procedimento potencial para a produção de biodiesel, permitindo alcançar elevados rendimentos de reação em menor período de tempo, aumentando significativamente a produtividade do processo.

Agradecimentos: FAPESP e CNPq.

ETHANOLYSIS OF CHICKEN FAT FROM PROCESSING BY-PRODUCTS CATALYZED BY NOVOZYM 435

Maria M. C. Feltes; Gisanara Dors; Luiza L. Eberhardt; Anderson F. Santos; Agenor Furigo Jr. and Jorge Luiz Ninow

Department of Chemist and Food Engineering, Federal University of Santa Catarina, Trindade. 88040-900 – FLORIANÓPOLIS-SC, Brazil.

Email: mmanuelafeltes@hotmail.com

Objective: This work aimed the enzymatic ethanolysis of chicken fat obtained from processing by-products.

Methods: The crude chicken fat was obtained from an industry located in São José, SC (Brazil). Reactions were carried out with Novozym 435 (Novozymes) at a mass ratio of 5% of reactants, during 10 h at 240 rpm, 35-55 °C and molar ratio 6:1-18:1 (*R*, ethanol:oil). Reactions were monitored by thin layer chromatography (TLC). The viscosity of the original oil and of the purified biodiesel obtained at the optimal conditions were determined.

Results: Bands of ethyl esters (Retention factor, $R_f = 0.73$) were visualized on the TLC plate for all tested conditions. Bands of triglycerides ($R_f = 0.58$) were not observed for reactions 'd' and 'e' (Figure 1). These results indicate that the reaction has occurred in all tested conditions and it was more favored when an excess of ethanol was used. The viscosity of the original fish oil was 30 cP while that of the purified biodiesel was 4.66 cP (reaction "d") and 5.11 cP (reaction "e").

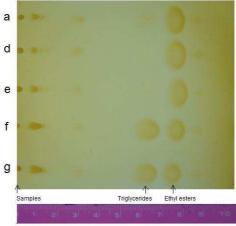


Figure 1. TLC analysis of samples obtained by the ethanolysis of chiken fat at (a) 45 °C, R = 12:1; (d) 55 °C, R = 18:1; (e) 35 °C, R = 18:1; (f) 55 °C, R = 6:1; (g) 35 °C, R = 6:1. Elution solvents: Hexane/Ethyl ether/Formic acid (80:20:2, v/v/v). Central point made in triplicate (data of reactions "b" and "c" not shown).

Conclusion: Novozym 435 was able to produce biodiesel from chicken fat in all experiments. The oil obtained from processing by-products seems to be a promising feedstock for biodiesel production due to its great availability and low cost.

DEGRADAÇÃO BIOTECNOLÓGICA DE GLICEROL ORIUNDO DA SÍNTESE DE BIODIESEL POR CONSÓRCIO MICROBIANO AMBIENTAL

<u>Daniele M. Rossi</u>, Janaína B. da Costa, Maria do Carmo R. Peralba, Dimitrius Samios, Marco A. Z. Ayub

Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves, 9500, Porto Alegre, RS, Brasil.

Objetivo: O presente trabalho teve como objetivo utilizar glicerol comercial e glicerol residual, proveniente da produção de biodiesel, como fonte de carbono para a produção de subprodutos como 1,3 Propanodiol e hidrogênio.

Matérias e Métodos: Nos experimentos foram utilizados bioreatores submersos (BSTR) de volume de 2 L com 70 g/L de glicerol residual de grau de pureza 80,93% e 70g/L de glicerol comercial. Os reatores foram inoculados com 10 % de um consórcio microbiano ambiental, previamente tratado a 90 °C por 20 min. A análise dos produtos formados foi determinada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).

Resultados: Observou-se que houve consumo total do glicerol comercial e residual em apenas 24 horas de cultivo e com produção de 1,3 Propanodiol: 2,86 g/L para glicerol residual e 3,57 g/L para glicerol comercial. Análises cromatográficas também mostraram que houve produção de hidrogênio.

Conclusão: A bioconversão do glicerol residual pela ação de microrganismos pré-selecionados foi totalmente satisfatória, visto que ocorreu 100% de conversão do mesmo com a produção de bioprodutos industrialmente importantes tais como o 1,3 Propanodiol e hidrogênio.

SELEÇÃO DE FONTE DE LIPASE PARA CATALISAR A SÍNTESE DE BIODIESEL VIA ETANÓLISE DO ÓLEO DE PINHÃO MANSO

<u>Lívia T. A. Souza</u>; Aline S. Simões; Ana P. O. Costa; Heizir F. de Castro Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo; Estrada Municipal do Campinho s/ n°, 12602-810 –LORENA-SP, Brasil.

E-mail: liviatereza@dequi.eel.usp.br

Objetivo: Selecionar fontes de lipases adequadas para mediar a síntese de biodiesel via etanólise do óleo de pinhão manso.

Materiais e Métodos: Diferentes fontes de lipases *Pseudomonas fluorescens* (Lipase AK), *Burkholderia cepacia* (Lipase PS), *Mucor javanicus* (Lipase M), *Aspergillus niger* (Lipase A), *Rhizopus oryzae* (Lipase 036P) e *Rhizopus oryzae* (Piccantase A) foram imobilizadas em epóxi-SiO₂-PVA e testadas na etanólise do óleo de pinhão manso refinado. As reações foram conduzidas em frascos Erlenmeyers de 125mL contendo 15 g de substrato composto de óleo de pinhão manso e etanol numa razão molar fixa de 1:9 sem adição de solvente, sob agitação orbital (200 rpm) por 72 h. Os meios reacionais foram incubados com os derivados imobilizados numa proporção de 500U/(g de óleo) a 45°C. Amostras foram retiradas para a quantificação dos ésteres etílicos formados por cromatografia de fase gasosa (Varian CG, Modelo 3800).

Resultados: Os rendimentos de transesterificação foram fortemente dependentes da fonte de lipase utilizada e variaram entre 0,31 a 92,89% em 72 h (Fig. 1). O desempenho mais elevado (92,89%) foi alcançado pela lipase PS, seguido da atuação da lipase AK (71,32%). As demais lipases avaliadas (Lipase M, Lipase A, Lipase 036P e Piccantase R8000) foram consideradas ineficazes nas condições testadas.

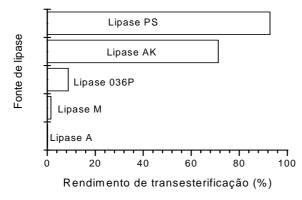


Figura 1. Rendimento de transesterificação do óleo de pinhão manso empregando diferentes fontes de lipases (45°C, 72h).

Conclusão: Os resultados obtidos confirmam que as lipases PS e AK são alternativas promissoras para mediar a etanólise enzimática de diferentes matérias-primas lipídicas, incluindo o óleo de pinhão manso.

Agradecimentos: FAPESP e CNPq.

CONVERSÃO MULTIZENZIMÁTICA DA SACAROSE EM FRUTOSE E ÁCIDO GLICÔNICO USANDO REATOR DESCONTÍNUO.

Aline Ramos da Silva, Ester Junko Tomotani e Michele Vitolo.

Universidade de São Paulo – Faculdade de Ciências Farmacêuticas.

Depto. de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica.

Av Prof. Lineu Prestes, 580, Bloco 16, Cidade Universitária, Butantã – São Paulo – SP. CEP: 05508-900.

E-mail: aliners@usp.br

Introdução: A sacarose é produzida em grande quantidade no Brasil, sendo uma commodity amplamente comercializada. Pode ser, todavia, convertida em derivados de maior valor agregado, como frutose e ácido glicônico, ambos usados nos setores químico, farmacêutico e alimentício.

Objetivo: Conversão multienzimática da sacarose em frutose e ácido glicônico utilizando invertase, glicose oxidase e catalase em reator descontínuo (adição seqüencial e simultânea das enzimas).

Métodos: Em reator descontínuo adicionou-se simultânea ou seqüencialmente as enzimas: invertase (137 U), glicose oxidase (26 U) e catalase (786 U). A reação foi efetuada sob agitação de 100rpm a 37°C e pH 4,6 por 30min ou 120min. A concentração inicial de sacarose foi de 32g/L em um volume total de 125mL de meio reacional. No processo realizado com a adição seqüencial das enzimas obteve-se conversão total da sacarose, enquanto que naquele com adição simultânea a conversão foi da ordem de 85%.

Palavras-chave: Invertase, glicose oxidase, catalase, açúcar invertido, ácido glicônico, reator descontínuo.

Apoio financeiro / Bolsa:FAPESP.

IMOBILIZAÇÃO DA ENZIMA CICLODEXTRINA GLICOSILTRANSFERASE EM DIFERENTES SUPORTES SÓLIDOS

Angélica Marquetotti Salcedo Vieira¹, Marcelo Fernandes Vieira¹, Paulo Waldir Tardioli², Rosângela Bergamasco¹, Gisella Maria Zanin¹ e José Manuel Guisán³.

¹ Universidade Estadual de Maringá, Dep. de Engenharia Química, Maringá-Pr

E-mail: amsvieira@uem.com

Objetivo: imobilização da enzima cilodextrina glicosiltransferase de *Thermoanaerobacter* sp. sobre diferentes suportes, visando otimizar a relação estabilidade-atividade da enzima imobilizada sob alta temperatura e pH.

Métodos: Toruzyme® 3.0 L (CGTase de *Thermoanaerobacter* sp.) foi doada por Novozymes A/S (Bagsvaerd, Denmark). Na determinação da concentração de β -CD utilizou-se o método colorimétrico da fenolftaleína como descrito por Tardioli et al. (2006). A atividade enzimática da CGTase solúvel e imobilizada foi determinada a 60°C, medindo-se a velocidade inicial da reação de produção de β -CD usando-se dextrina como substrato de acordo com Tardioli et al. (2006). Uma unidade (U) foi definida como a quantidade de enzima que produz 1 μmol de β -CD/min, nas condições descritas. Foram utilizados os seguintes suportes de imobilização: Sepharose 6B-CL, e Sepharose 4B ativada com CNBr.

Resultados: Com a medida dos parâmetros para a imobilização de CGTase sobre diferentes suportes, pode ser observado que o rendimento de imobilização foi maior que 60% para todos os suportes estudados.

Suporte	Tempo de imobilização (h)	Rendimento de imobilização (%)	Recuperação de atividade (%)
Glioxil-agarose	6	100	29,9
CNBr-Sepharose	0,83	95,18	18,41
AEGA	24	81,60	10,02
AEA	1	62,57	80,74

Conclusão: Dentre os suportes avaliados o derivado preparado em glioxil-agarose apresentou os melhores resultados, alcançando 100% de eficiência de imobilização. Apesar da baixa recuperação de atividade o derivado preparado em glioxil-agarose se mostrou muito estável frente à temperatura, mantendo 80% de sua atividade após 20h de reação a 80°C e pH 6. O derivado amino-epoxido-glioxil-agarose apresentou boa estabilidade térmica a pH 4, mantendo uma atividade residual acima de 60% após 22 horas.

² Universidade Federal de São Carlos, Dep. de Engenharia Química, São Carlos-SP

³ Instituto de Catálysis e Petroquímica, Consejo Superior de Investigación Científica, Madri, Espanha

ALCOHOLYSIS OF PALM OIL USING IMMOBILIZED LIPASE ON HYBRID HYDROGEL CHITOSAN-ALGINATE CHEMICALLY MODIFIED

Adriano A. Mendes^{1*}, Willian Kopp², Ariela V. Paula¹, Raquel de L. C. Giordano²; Heizir F. de Castro¹

¹Engineering School of Lorena-USP, PO Box 116, 12602-810, Lorena-SP ²Federal University of São Carlos, PO Box 676, 13565-905, São Carlos-SP Brazil*e-mail: adriano.a.mendes@dequi.eel.usp.br

Objective: This work aims to immobilize *Thermomyces lanuginosa* lipase (TLL) through multipoint attachment on selected hybrid hydrogel chitosanalginate chemically modified with 2,4,6 trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS) followed by activation with different agents, such as glycidol (GLY), epichlorohydrin (EPI) and glutaraldehyde (GLU) to be used in the biodiesel synthesis by ethanolysis of palm oil.

Materials and Methods: Activated supports were used to immobilize the lipase at fixed loading (5 mg of protein.g⁻¹ of support), pH 10.05 for 12 h. Transesterification reactions were performed at fixed molar ratio palm oil to alcohol (1:18) at 45°C, incubating with 2 mg of immobilized enzyme per gram of palm oil. Reactions were monitoring by CG and viscosity.

Results: Lipase immobilized on hybrid hydrogel activated with the epoxyde reactants (GLY and EPI) attained full conversion (100%) at 48 h, (Table 1). The viscosity of the fatty acid ethyl esters produced (biodiesel) from palm oil are in accordance with specifications recommended though the Brazilian Petroleum Agency (ANP) to be used as biofuel.

Activation agents	Conversion ^{48h} (%)	Viscosity (cSt)
GLY	100	4.35
EPI	100	4.33
GLU	85.1	4.66

Acknowledgment: FAPESP and CNPq for financial support and Novozymes.

PRODUÇÃO DAS ENZIMAS INVERTASE E PROTEASE EM FERMENTAÇÃO EM ESTADO SÓLIDO COM Aspergillus niger

<u>Christiane P. Rocha</u>; Ubirajara C. Filho; Vicelma L. Cardoso Universidade Federal de Uberlândia – Faculdade de Engenharia Química Caixa Postal 593 - 38400-902 Uberlândia – MG

E-mail: rochachristiane@uol.com.br

Objetivo: Avaliar a produção das enzimas invertase e protease utilizando *Aspergillus niger* e como substrato resíduos da indústria de suco de maracujá (M) e beneficiadora de arroz (A), empregando planejamento composto central (PCC).

Materiais e Métodos: Em erlenmeyer de 250 mL foram colocados 30 g de substrato variando a relação A/T, sendo T a massa total de substrato (A+M), de 0 a 1 g/g. Ao substrato foi adicionado o inóculo conforme concentração definida para o PCC. A fermentação ocorreu a temperatura ambiente (28 ± 3°C) por 96 h. Ao final da fermentação foi realizada a extração do meio fermentado e a solução foi filtrada. A atividade invertásica foi feita pelo método das taxas iniciais em relações de formação de açúcar redutor da hidrólise da solução dos substratos de sacarose a 1%. Nestes ensaios a quantidade de açúcar redutor foi determinada espectofotometricamente pelo método do DNS (MILLER, 1959). A atividade proteolítica foi avaliada espectrofotometricamente (440 nm) como sendo a velocidade de hidrólise de azocazeína em solução tampão citrato-fosfato pH 5,0 com 1% de substrato. Neste método foi utilizado a proporção de 1,5 mL de substrato para 0,5 mL de extrato enzimático a 37°C e 2 horas de tempo de reação com finalização da reação pela adição de 0,7 mL de ácido tricloroacético a 10% (SINGH et al 2004). As atividades em invertase e protease foram expressas em U/ 100g de sólidos, sendo U definido pela hidrólise de 1 umol/min de substrato.

Resultados: Conforme análise das curvas de contorno obtidas no PCC, as regiões de otimização para a atividade da invertase apresentam as seguintes faixas: A/T de 0,45 a 0,85 g/g, umidade de 45,5 a 55,2 (g/100g) e inóculo de 0,20 a 0,35 g/100g. Os valores reais do ponto de máximo, obtidos com a implementação de um algoritmo no software Scilab 5.0.1 foram : 0,656 g arroz/g de massa total, 51.1 g/100g de umidade e 0,294 g/100g de substrato. No ponto de máximo a atividade de foi de 112,56 \pm 3,2 U/100g. Para produção de protease as regiões de otimização foram de A/T de 0,30 a 0,50 g/g, 42,3 a 52,4 g/100g de umidade e 0,12 a 0,23 g/100g de inóculo . Os valores reais do ponto de maximização destas regiões foram de 0,35 g arroz/g massa total, 48 g/100 de umidade e 0,182 g/100 g de substrato, obtendo a atividade de 408,88 \pm 6,1 U/100g.

Conclusão: Os resultados mostraram que ocorreu maior produção de invertase para maior concentração de A e de protease para maiores concentrações de M. Dentro da faixa estudada para as variáveis: A/T, umidade e concentração de inoculo, foi possível obter regiões de otimização para a atividade da invertase e da protease. Os testes de reprodutibilidade mostram que os experimentos realizados dentro da região de otimização apresentaram valores próximos.

INFLUÊNCIA DO pH EM FERMENTAÇÃO SEMI-SÓLIDA PARA A PRODUÇÃO DE ENZIMAS CELULOLÍTICAS

Silva, E. S., Maiorano, A. E., Salomoni, R., Rodrigues, M. F. A. Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo – IPT Centro de Tecnologia de Processos e Produtos – CTPP Laboratório de Biotecnologia Industrial - LBI

Objetivos: Controle do pH em cultura semi-sólida para a produção de enzimas celulolícas.

Materiais e Métodos: Foram utilizados microrganismos isolados, identificados IPT 825, IPT 829 e IPT 779. O substrato utilizado foi farelo de trigo e com suplementação de sulfato de amônio para o controle do pH. Os ensaios foram realizados em erlenmeyer, estático, com 50% de umidade, a 30°C, inoculados com uma suspensão com 10⁷ esporos/mL, pH 4,5 inicial, durante 14 dias. Foram determinadas as medidas de pH e as atividades enzimáticas foram realizadas em um extrato realizado em material seco.

Resultados: O experimento realizado em farelo de trigo apresentou uma variação do pH nos primeiros dias de cultivo, alcançando valores na faixa de 7,0 no quinto dia de cultivo, duas linhagens obtiveram resultados com valores de pH 7,5. Verificou-se no mesmo período uma queda nas atividades enzimáticas para todas as linhagens.

No experimento utilizando sulfato de amônio como suplemento do meio de cultivo, verificou-se que os valores de pH permaneceram em valores menores que 7,0 até o nono dia, não ultrapassando a faixa de 7,0 para a linhagem IPT 829.

As atividades enzimáticas mostraram um comportamento diferenciado no meio suplementado, apresentando melhor estabilidade do sistema. A linhagem IPT 829 apresentou a maior atividade FP e CMC no 3° dia de cultivo e β -glicosidase no 8° dia, sempre com valores maiores do que com o meio sem suplementação. A linhagem IPT 825 apresentou desempenho similar ao meio sem suplementação, mas com valores menores para as atividades CMC e β -glicosidase, com valores máximos entre o 7 e o 8° dia de cultivo.

Conclusão: Com os resultados obtidos pode-se concluir que utilizar suplementação de fonte de nitrogênio facilmente metabolizável no farelo de trigo como meio de cultivo para estas linhagens, possibilita um melhor desempenho das produção das enzimas, favorecendo um ambiente mais adequado quanto ao pH do sistema.

USO DE BIOMASSAS PARA A PRODUÇÃO DE ÁCIDO SUCCÍNICO POR Actinobacillus succinogenes

Elcio R. Borges¹; Ludmylla B. R. Souza¹; Nei Pereira Jr¹.

1- Departamento de Engenharia Bioquímica, Escola de Química, UFRJ. Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

E-mail: <u>elcioeq@yahoo.com.br</u>

Objetivo: avaliar as condições de um bioprocesso para produção de ácido succínico por *Actinobacillus succinogenes*.

Material e Métodos: o microrganismo foi mantido em ágar inclinado TSA (Agar Triptona de Soja) e armazenado a 4°C. Inicialmente, frascos Erlenmeyer de 500 mL contendo 200 mL de meio TSB (Caldo de Triptona de Soja), previamente esterilizado por 15min a 121°C, foram inoculados com uma colônia de Actinobacillus succinogenes, para obtenção do cultivo inicial de inóculo. As condições de cultivo, em incubadora refrigerada orbital, foram: temperatura de 37°C, sob agitação de 150 rpm por 16 horas. As fermentações foram realizadas em frascos com o mesmo volume de meio anterior, com CO₂ na fase gasosa a 0,05 vvm, para garantir condições anaeróbicas. O meio de fermentação foi inoculado, depois de esterilizado, com 10% (v/v) de inóculo e incubado em Shaker, sob condições de agitação, pH e temperatura prédefinidas. A composição do meio de crescimento usado para a fermentação apresentou a seguinte composição (em g.L⁻¹): NaH₂PO₄.H₂O 8,5; K₂HPO₄ 15,5; Peptona de caseína: 17,0; Peptona de soja 3,0; Cloreto de sódio 5,0; Fosfato dipotásico 2,5, Glicose 20, 30 e 40,0 e Extrato de levedura 5,0, 8,0 e 11,0 (de acordo com o planejamento experimental). A concentração de massa celular foi acompanhada por espectrofotometria a 600 nm. A concentração de glicose residual e a concentração de ácido succínico foram determinadas por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). A eficiência de ácido succínico foi medida de acordo com a quantidade de ácido sucínico produzido/1 g de glicose consumida (expressos em porcentagem).

Resultados: verificou-se que a concentração de ácido succínico apresentou uma variação em sua produção de 1,7 até 14,0 g.L⁻¹, e que as maiores concentrações, apresentaram como característica o ajuste de pH para 7,0. O maior rendimento de conversão do substrato para produto foi obtido com uma concentração de 40 g.L⁻¹ de glicose, 11g.L⁻¹ de extrato de levedura, temperatura de 42^oC, pH 8,0 e agitação de 300rpm, em 48h de fermentação.

Conclusão: o pH mostrou-se como uma variável de elevada importância estatística, com aumento de 7,0 g.L⁻¹ na concentração de ácido succínico, ao elevar o pH de 6,0 para 8,0. A temperatura foi o segundo parâmetro a apresentar efeitos significativos, seguido de pouca influência da agitação.

ESTUDO DAS CONDIÇÕES DE CULTIVO EM FERMENTADOR DE BANCADA PARA PRODUÇÃO DE GLUTATIONA

Lucielen O. dos Santos¹, Andréia Anschau² e Ranulfo M. Alegre²

Objetivos: Avaliar a produção de glutationa em fermentador de bancada em função das condições de agitação, aeração, adição de aminoácidos e fonte de nitrogênio.

Materiais e métodos: A levedura *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 7754 foi utilizada para produção de glutationa (GSH) utilizando fermentador Bioflo III. As condições de cultivo foram pH_{inicial} 5, 5% (v/v) de inóculo, 20°C, 72 h de fermentação e o meio de cultivo continha glicose (54 g/L), fonte de nitrogênio (50 g/L) e sulfato de magnésio (12 g/L). Em alguns ensaios foram adicionados aminoácidos em 6 h (2 mM de cisteína) e 28 h (3,35 mM de cisteína, 10 mM de ácido glutâmico e 18 mM de glicina). Durante a fermentação foram feitas determinações de pH, concentração celular, de glicose e de glutationa.

Resultados: A tabela abaixo mostra os ensaios realizados e os resultados obtidos, onde EL (extrato de levedura), AMM (água de maceração de milho) e AA (adição de aminoácidos):

	\ 3		/			
Ensaio	Agitação	Aeração	Fonte de	AA	GSH	Biomassa
Liisaio	(rpm)	(vvm)	Nitrogênio		(mg/L)	(g/L)
1	300	0,46	peptona	não	139,4 _{72h}	10,15 _{70h}
2	300	0,53	peptona	sim	$167,6_{72h}$	$10,28_{48h}$
3	400	0,53	peptona	sim	159,9 _{72h}	$10,60_{70h}$
4	500	0,53	peptona	sim	$175,4_{72h}$	$10,72_{67h}$
5	500	1,1	peptona	sim	$167,8_{72h}$	11,09 _{67h}
6	500	1,1	EL	sim	$205,7_{68h}$	$19,19_{72h}$
7	500	1,1	AMM	sim	139,5 _{67h}	$15,05_{67h}$

No ensaio 4 foi conseguida a maior conversão de célula em produto (16,7 $mg_{GSH}/g_{c\acute{e}l})$ e substrato em produto (3,25 $mg_{GSH}/g_{gli})$ e no ensaio 6 a maior conversão de substrato em célula (0,36 $g_{c\acute{e}l}/g_{glic})$. Os melhores resultados de concentração de GSH foram obtidos durante a fase exponencial, o que também foi observado por outros autores.

Conclusão: As melhores condições de cultivo no fermentador de bancada para produção de GSH foram 500 rpm; 1,1 vvm; com adição de aminoácidos e utilizando extrato de levedura como fonte de nitrogênio.

¹ DTA – UFRRJ, BR 465 km 7, Seropédica-RJ, Brasil

² DEA - UNICAMP, Rua Monteiro Lobato 80, Campinas-SP, Brasil E-mail: lucielen@ufrrj.br

USO DE REATOR EM COLUNA PARA DEGRADAÇÃO DE ANTRACENO COM EXTRATO ENZIMÁTICO BRUTO IMOBILIZADO

<u>Cátia T. dos Passos</u>, Andrea Scamaral, Márcia de C. Orantas, Fátima Menezes Bento, Maria do C. R. Peralba, Flávio A. de O. Camargo

Departamento de Ciências Básicas da Saúde, PPG em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Laboratório de Biorremediação – Faculdade de Agronomia, UFRGS. Av. Bento Gonçalves, 7712, Bairro Agronomia Cx. Postal 15100, 91501-970 - Porto Alegre – RS, Brasil

E-mail: catia_passos@yahoo.com.br

Objetivo: O presente trabalho teve como objetivo a degradação de antraceno, utilizando reatores em coluna, com extrato enzimático bruto imobilizado em alginato de cálcio, produzido por *Gordonia polyisoprenivorans*.

Material e Métodos: O extrato enzimático foi obtido pelo cultivo da bactéria em meio Luria-Bertani acrescido de 250 mg/L de antraceno, em erlenmeyer de 500 mL, a 30 °C e 190 rpm, durante 36 h. As células foram obtidas por centrifugação e ressuspendidas em 25 mL de tampão pH 7. O rompimento celular foi realizado por sonicação em banho de gelo. Após, o extrato celular foi centrifugado e utilizado o sobrenadante. Foi realizada imobilização de 10 mL do sobrenadante em 40 mL de alginato. O leito do reator foi empacotando com lã de vidro nas extremidades e com as enzimas imobilizadas. O reator foi alimentado, em fluxo contínuo ascendente, com uma solução tampão (pH 7), com diferentes concentrações de antraceno (100, 250, 350 e 500 mg/L). Amostras foram coletadas na parte superior do reator a cada 12 h, totalizando 72 h de ensaio e a degradação foi detectada utilizando cromatografia gasosa.

Resultados e Discussão: Devido a dificuldade de diluição do antraceno a concentração inicial que efetivamente entrava no reator era em torno de 50 mg/L, para todas as concentrações testadas, logo a concentração de alimentação, durante o processo, foi variável. Foi verificada uma degradação de cerca de 99 % para a menor concentração testada e de 91 % para as demais concentrações, resultando em um efluente incolor. Foi possível constatar a partir desses resultados que o reator apresentou alta eficiência de remoção deste contamimante tóxico.

Conclusão: Verificou-se, a partir dos resultados obtidos, que este método é eficiente para remoção de antraceno, no entanto deve ser otimizado para haver uma alimentação com concentração constante de antraceno.

DESCOLORAÇÃO DE CORANTES SINTÉTICOS POR PLEUROTUS OSTREATUS E SUA ATIVIDADE DE LACASE

Leonel Vinícius Constantino, Fábio Rosnei da Silva, Eliane Saori Otaguiri , Suely Mayumi Obara Doi

Universidade Estadual de Londrina-Londrina-Pr / Centro de Ciências Exatas/ Departamento de Bioquímica e Biotecnologia –

e-mail: obaradoi@uel.br.

Objetivo: Avaliar a capacidade do fungo basidiomiceto *Pleurotus ostreatus* em descolorir corantes sintéticos da indústria têxtil e determinar suas atividades de lacase.

Métodos: Para avaliar o biotratamento de corantes têxteis pelo fungo *Pleurotus ostreatus* em meio líquido, 3 discos de micélio fúngico (0,5 cm de diâmetro), foram inoculados em 4 meios de cultivo com diferentes composições contendo: 12,5 mL de corante (0,01%) e meio de Vogel (2%) suplementado com diferentes compostos: meio 1 (glucose 1%, extrato de levedura 0,2%), meio 2 (glucose 1%), meio 3 (bagaço de cana 1%, extrato de levedura 0,2%, etanol 4%), e meio 4 (bagaço de cana 1%, etanol 4%), em volume final de 25mL, incubados a 28°C e 180 rpm de agitação até se observar a descoloração. A atividade de lacase foi determinada utilizandose o substrato 2,6-dimetoxifenol 10mM (DMP). A unidade de atividade da lacase foi definida como o número de umoles de DMP oxidados por minuto por mL de extrato enzimático.

Resultados: As maiores percentagens de descoloração observadas foram : Remazol Azul R- ESP, 97,8% de descoloração empregando o meio 2; Remazol Preto Intenso, 85,3% de descoloração no meio 3, Remazol Laranja 3 R, 96,2% de descoloração no meio 1; Remazol Preto B133 GRAM, 87,9% de descoloração no meio 4 e Marinho Procion HER, 90,0% de descoloração no meio 2. Os resultados demonstraram que as maiores atividades de lacase para todos os corantes ocorreram no meio 3: Remazol Azul R- ESP (0,920 U/mL), Remazol Preto Intenso (0,122 U/mL), Remazol Laranja 3 R (0,704 U/mL), Remazol Preto B133 GRAM (0,956 U/mL) e Marinho Procion HER (0,798 U/mL).

Conclusões: As elevadas percentagens de descoloração obtidas indicam que o *Pleurotus ostreatus* apresenta um grande potencial biotecnológico no tratamento de efluentes têxteis corados. E estudos mais aprofundados do envolvimento de enzimas ligninolíticas no mecanismo de descoloração são necessários.

CINÉTICA E FISIOLOGIA DA BIODEGRADAÇÃO DE GLIFOSATO POR CONSÓRCIOS MICROBIANOS

<u>Paola C. Tarouco</u>; Priscila Souza-Cruz; Angela Machado E Marco A. Z. Ayub.

Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, UFRGS; Av. Bento Gonçalves, 9500, 91540-000 – Porto Alegre-Rs, Brasil.

E-mail: paolatarouco@gmail.com

Objetivo: O presente trabalho tem como objetivo desenvolver a aplicação de sistemas biológicos (fungos, bactérias, consórcios destes microrganismos) para a biodegradação (mineralização ou degradação a metabólitos secundários) do glifosato, herbicida empregado em lavouras.

Metodologia: Os microrganismos foram isolados de solos com histórico de aplicação de glifosato. Os ensaios de biodegradação foram realizados em shaker a 30°C, 120 rpm, por 5 dias, com os quatro isolados bacterianos inoculados individualmente em Erlenmeyers (500 mL) contendo 100 mL de meio mineral, 2 g de glicose e 200 μg/mL de glifosato (em triplicata). Este mesmo ensaio foi realizado com biomassa inativada termicamente como controle para biossorção. Diariamente foram retiradas amostras para análise da concentração de glifosato em cromatógrafo iônico, equipado com detector de condutividade. A avaliação do crescimento foi realizada por densidade óptica (DO a 600 ηm) e contagem de unidades formadoras de colônia (UFC). Ensaios em biorreatores (2L) combinando os isolados bacterianos em consórcio foram realizados para avaliar a degradação de glifosato sob diferentes condições de cultivo como agitação (200, 300 e 400 rpm) e aeração (1; 2,5 e 4 vvm), sem controle de pH.

Resultados: Os isolados gli-a, gli-d, gli-e e gli-f foram capazes de degradar ao longo do cultivo em shaker 74, 69, 53, 53 μg/mL de glifosato, respectivamente. O consórcio cultivado em biorreator sob as condições 1 (300rpm/2,5 vvm); 2 (200rpm/1vvm) e 3 (400rpm/4vvm) degradou 62, 49 e 23 μg/mL do herbicida ao longo do cultivo, respectivamente. Não foi observado efeito de adsorção do pesticida pelas células.

Conclusão: Os maiores níveis de degradação foram observados pelos isolados gli-a e gli-d quando inoculados individualmente em shaker. Das diferentes condições de cultivo avaliadas em biorreator para o consórcio a que apresentou melhor degradação foi a condição 1 (300rpm/2,5vvm) com uma redução de 31% (62 µg/mL) da concentração inicial do herbicida.

OTIMIZAÇÃO DA PRODUÇÃO DE LACASE POR Ganoderma lucidum EM CULTIVOS EM ESTADO SÓLIDO UTILIZANDO CASCAS DE MARACUJÁ COMO SUBSTRATO

Adriana Zilly, Rosane Marina Peralta

Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular – Universidade Estadual de Maringá – PR, Brasil.

E-mail: aazilly@bol.com.br

Objetivos: Otimizar a produção e extração da lacase de *Ganoderma lucidum* cultivado em fermentação em estado sólido utilizando como substrato casca de maracujá.

Material e Métodos: Os cultivos foram realizados em frascos Erlenmeyer de 250 ml contendo casca de maracujá como substrato por 21 dias a 28 °C, variando-se os seguintes parâmetros: umidade do meio de cultivo (75, 80, 85 e 90%), tempo de extração das enzimas (30, 60 e 120 min) e solução extratora (água, tween 80 a 1% e tampão fosfato 50 mM, pH 4,0). A enzima lacase foi determinada espectrofotometricamente pelo método do ABTS a 420 nm e expressa em U/L, unidade que define a quantidade de enzima requerida para oxidar 1 μmol de substrato por min a 40° C.

Resultados: A melhor umidade do meio de cultivo para produção da lacase pelo fungo *G. lucidum* foi de 90%. Não houve variação significativa da extração da enzima quando variou-se o tempo de extração entre 30 e 120 min. Das 3 soluções extatoras utilizadas, a que apresentou melhores resultados foi a solução de tween 80 a 1%.

Conclusão: Antes desta otimização, os maiores valores de lacase obtidos por *G. lucidum* cultivado em casca de maracujá era de 6.000 U/L. Otimizando-se os parâmetros umidade inicial do cultivo, tempo de extração da enzima e solução extratora (tween 80 a 1% em vez de água), foi possível obter uma atividade de lacase de 10.100 U/L.

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE EXTRATOS DO MICÉLIO DE Pycnoporus sanguineus

Josiane Borderes^a, <u>Alessandra Costa</u>^b, Alessandro Guedes^c, Lorena B. B. Tavares^b

E-mail: alessandra.cst@gmail.com

Objetivos: Avaliar a expressão de compostos antioxidantes e a cinética de crescimento do fungo *Pycnoporus sanguineus* cultivado em sistema submerso com inóculo produzido em meio sólido a base de serragem.

Materiais e Métodos: O fungo *Pycnoporus sanguineus* foi cultivado em meio sólido a base de serragem, o qual foi utilizado como inóculo para o cultivo em meio Caldo Dextrosado de Batata e Peptona. Neste sistema avaliou-se a produção de biomassa, o consumo de glicose, a variação do pH do meio e a capacidade antioxidante. O potencial antioxidante foi avaliado com extratos metanólicos de diferentes tempos de cultivo do micélio (5, 10, 15, 20, 25 e 30 dias) pelo método DPPH e pelo sistema β-caroteno/ácido linoléico.

Resultados: A produção de inóculo em substrato a base de serragem demonstrou-se favorável ao crescimento celular de *P. sanguineus* no cultivo submerso. Sua utilização promoveu maiores valores de biomassa em menor tempo de cultivo. Durante a fase exponencial de cultivo foram obtidos os valores cinético máximos de velocidade especifica (0.289 dia⁻¹), produtividade (0.698 g.l.dia⁻¹) e fator de conversão de glicose em biomassa (26.24 g.g⁻¹). Os extratos do fungo apresentaram potencial antioxidante satisfatório quando comparado a outros fungos. Os melhores resultados de capacidade antioxidante foram constatados na fase estacionária do crescimento micelial, indicando que são compostos ativos do metabolismo secundário deste fungo e sua produção não está associada à multiplicação celular.

Conclusões: Os resultados revelam que este fungo apresenta potencial como agente produtor de substâncias naturais com características antioxidantes. Portanto, é de grande importância a realização de trabalhos futuros visando a purificação e a identificação de tais compostos, assim como a investigação de outras substâncias com propriedades bioativas.

^a Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Regional de Blumenau (FURB), Rua São Paulo 3250, 89030-000, Blumenau- SC, Brasil.

^b Departamento de Engenharia Química, FURB.

^c Departamento de Ciências Farmacêuticas, FURB.

OBTENÇÃO DOS PARÂMETROS DE UM MODELO MATEMÁTICO PARA FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA A PARTIR DA FARINHA DA RASPA DA MANDIOCA

André Luis Weiber Chaves, Wagner André dos Santos Conceição, <u>José</u> <u>Eduardo Olivo</u>, Cid Marcos Gonçalves Andrade*

Universidade Estadual de Maringá – Departamento de Engenharia Química Av. Colombo, 5790 – 87020-900, Maringá-PR – Brasil email: cid@deq.uem.br

Objetivo: O objetivo deste trabalho foi ajustar os parâmetros do modelo proposto na literatura que considera os efeitos de inibição pelo substrato e pelo produto na cinética da fermentação.

Método: O processo estudado foi o da sacarificação com fermentação simultânea de xarope de farinha de raspa de mandioca pré-hidrolizada. O modelo proposto foi um que considera efeitos de inibição tanto pelo produto como pelo substrato, o que inclui outros parâmetros, além daquelas encontradas no modelo de Monod. Para o ajuste do modelo desenvolveu-se uma rotina no Matlab[®], usando-se o método de Runge-Kutta para a resolução das equações diferenciais, o Método Simplex para a otimização dos parâmetros e como critério de parada o método Mínimos Quadrados Modificado.

Resultados: Para dois dos ensaios os resultados foram bons, no terceiro não foram tão bons, neste percebe-se que apenas para a curva de crescimento celular existe um comportamento compatível com os dados experimentais, os demais ajustes se distanciam em relação ao experimental. Conclusão: O modelo proposto ajusta-se bem aos dados experimentais obtidos por experimentalmente para as concentrações iniciais do substrato usados nos experimentos. Observa-se que tanto a concentração inicial do substrato, bem como a concentração inicial das células também influenciam no ajuste do modelo. Algumas discrepâncias são observadas ao final dos experimentos, onde provavelmente o efeito da morte celular aparece e o modelo não está apto a prever este fenômeno.

^{*} autor a quem toda correspondência deve ser dirigida

FRACIONAMENTO DE SURFACTINA EM COLUNA DE BOLHAS E ESPUMA

Rafael F. Perna; Cesar C. Santana

Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas; Av. Albert Einstein 500, 13083-970 – Campinas-SP, Brasil.

E-mail: santana@feq.unicamp.br

Objetivo: O presente trabalho teve por objetivo estudar a concentração do biossurfactante surfactina a partir de caldo de fermentação em coluna de bolhas e espuma, com diferentes condições operacionais, visando otimizar a recuperação do bioproduto.

Materiais e Métodos: Surfactina, produzida por fermentação utilizando-se *Bacillus subtilis*, foi concentrada e recuperada em coluna de bolhas e espuma com 3,0 cm de diâmetro e 120 cm de altura. A recuperação do biossurfactante ocorreu através da injeção de gás nitrogênio, nas vazões de 40 ou 60 ml/min, pela base da coluna de líquido que continha o caldo fermentado pH 7,0 nas concentrações de 240 ou 400 mg/L. O gás nitrogênio ascende na forma de bolhas e durante o trajeto adsorve a surfactina devido às suas características anfifílicas. No topo da coluna de líquido forma-se uma coluna de espuma concentrada no biossurfactante adsorvido, sendo recuperado pelo rompimento da espuma. Os valores de concentração das amostras de surfactina coletadas na coluna de bolhas e espuma foram obtidos através de medidas de tensão superficial. A recuperação foi definida como a massa de surfactina na espuma dividido pela massa total do biossurfactante; o enriquecimento foi expresso como a razão das concentrações de surfactina presentes na espuma e no caldo de fermentação alimentado, respectivamente.

Resultados: Os resultados de recuperação e enriquecimento obtidos para a surfactina, em diferentes condições operacionais, são mostrados na tabela abaixo:

Concentração (mg/L)	Vazão (mL/min)	Temperatura (°C)	Recuperação (%)	Enriquecimento
		15	92,7	4,9
240	60	25	97,3	7,8
		35	97,3	15,5
		15	68,1	6,7
400	40	25	97,9	8,2
		35	74,3	20,0

Conclusão: O processo que utiliza coluna de bolhas e espuma é promissor como etapa de concentração do biossurfactante, apresentando maiores valores de recuperação e enriquecimento na temperatura de 35 °C.

UTILIZAÇÃO DE MEMBRANAS PARA REAPROVEITAMENTO DAS ENZIMAS CELULOLÍTICAS APÓS HIDROLISE ENZIMÁTICA

Raul Alves de Oliveira, Rodrigo da R Olivieri de Barros, Angela Gava Barreto, Suely Pereira Freitas, Elba P. S. Bon

Laboratório de Tecnologia Enzimática - Instituto de Química, UFRJ - Universidade Federal do Rio de Janeiro - CT - Bloco A - Lab. 549-3. Av. Athos da Silveira Ramos, 149 - CEP 21941-909 Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Introdução: Muitos esforços têm sido feitos para o desenvolvimento da tecnologia de produção de etanol de segunda geração. Porém, fatores como o alto custo das enzimas, a baixa produtividade e a dificuldade atual em se atingir os rendimentos esperados têm se mostrado importantes desafios científicos para o sucesso comercial da técnica.

Objetivos: Este trabalho apresenta a proposta de um sistema de reaproveitamento das enzimas utilizadas na hidrólise de materiais lignocelulósicos, utilizando membranas. O processo consiste em passar o hidrolisado gerado em 14 horas de ensaio em membranas de microfiltração e de ultrafiltração a fim de retirar partículas sólidas em suspensão e concentrar as enzimas, para uma posterior reutilização em um novo ensaio ou ainda em processos do tipo batelada alimentada.

Materiais e métodos: Para os ensaios de microfiltração e ultrafiltração foram utilizadas membranas de polietersulfona com tamanho de poro igual a 0,2 μm, para a microfiltração e corte de 30 kDa para a ultrafiltração. Na etapa de filtração a pressão utilizada foi de 1,4 bar e o fator de concentração utilizado foi igual a 4. As atividades enzimáticas de FPase e β-glucosidase foram quantificadas com base nas metodologias descritas por Ghoose *et. al* (1985).

Resultados: No início do ensaio de hidrólise foram utilizadas enzimas contendo 1,0 UI/mL de FPase e 3,06 UI/mL de β -glicosidase. Após as 14h de hidrólise as atividades apresentaram 0,390 UI/mL para a FPase e 3,06 UI/mL para a β -glucosidase. E finalmente após a concentração, apresentaram 0,79 UI/mL para a FPase e 9,04 UI/mL para a β -glucosidase.

Conclusões: Nas condições utilizadas foi possível recuperar 50,64% da atividade de FPase e 73,86% da atividade de β -glicosidase. Estas perdas se devem a três fatores: a adsorção da enzima na membrana durante a concentração a passagem de algumas enzimas pela membrana de ultrafiltração e ainda à inativação da enzima.

PURIFICAÇÃO DE LIPASE MICROBIANA UTILIZANDO SISTEMA AQUOSO BIFÁSICO PEG/FOSFATO

José Murillo P. Barbosa¹, Ranyere L. de Souza¹, Alini Fricks², Roneval F. de Santana²; Gisella Maria Zanin³; Álvaro S. Lima^{1,2}, Cleide M. F.Soares^{1,2*}

¹Universidade Tiradentes Avenida Murilo Dantas, 300- Farolândia- 49032-490, Aracaju-SE-Brazil; ²Instituto de Tecnologia e Pesquisa-ITP, Prédio ITP Avenida Murilo Dantas, 300- Farolândia- 49032-490, Aracaju-SE; ³Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo 5790, E-46, 87020-900, Maringa-PR, E-mail: cleide_mara@itp.org.br;

Objetivo: Este trabalho objetivou estudar a influência da massa molecular e concentração do polietilinoglicol (PEG) na purificação de lipase.

Métodos: A lipase foi obtida por fermentação submersa utilizando a bactéria isolada de solo codificada como Biopetro-04. A fermentação ocorreu em erlenmeyers de 250mL contendo 100mL de meio de cultura (%, p/v): KH₂PO₄ (0,1), MgSO₄.7H₂O (0,05), NaNO₃ (0,3%), extrato de levedura (0,6), peptona (0,13), amido (2%), óleo de coco (4%), triton X (1%); na temperatura de 37°C, pH 7,0 e 170rpm inoculado com 10% de inóculo com 48h de idade. Após 120h o fermentado foi filtrado, as proteínas precipitadas com sulfato de amônia a 80% de saturação. A solução contendo a enzima foi dializada (peso de corte 12.000Da). Os sistemas aquosos bifásicos (SAB) foram preparados com PEG (1500, 4000 e 8000) e fosfato (20-18%, p/v), em seguida foi verificado o efeito da concentração do PEG (14, 16, 18, 20, 22, 25 e 27%) em 18% de fosfato. Foram determinados as concentrações de proteína total, atividade lipolítica, coeficiente de partição (K), razão volumétrica entre as fases (Rv), rendimentos no topo e fundo (Rt e Rf, respectivamente) e o fator de purificação (FP).

Resultados: As proteínas contaminantes são precipitadas com o (NH₄)₂SO₄ enquanto as lípases ficam no sobrenadante, após diálise o FP atinge valor de 6,23 vezes. As Rv variaram entre 0,56 e 1,26; e os FP obtidos para os SAB preparados com PEG foram maiores na fase de fundo e crescente com o aumento da massa molecular. Para a influência da concentração do PEG observou-se um fator de purificação variando entre 56,81 a 114,14 vezes. O Rf entre 86,99 e 94,39%.

Conclusão: O PEG influencia na purificação de lípase, a melhor condição foi PEG-8000 a 20% e 18% de fosfato. Esta condição propiciou um FP de 114,14 vezes e Rf de 94,4%.

ESTUDO DAS CONDIÇÕES DE EXTRAÇÃO DA GLUTATIONA PRODUZIDA POR CANDIDA TROPICALLIS CCT5846

Andréia Anschau, Lucielen Oliveira dos Santos e Ranulfo Monte Alegre Departamento de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas; Caixa Postal 6121, 13083-862 – Campinas – SP, Brasil. E-mail: anschau@fea.unicamp.br

Objetivo: O objetivo do trabalho foi estudar diversas condições de extração da glutationa (GSH) em frascos Erlenmeyer, utilizando *Candida tropicallis* CCT 5846 em meio contendo subprodutos industriais como fontes de carbono e de nitrogênio.

Metodologia: As fermentações foram de 96 h com retiradas de amostras nesse período e realizadas medidas de pH, concentração de GSH e de açúcares. Para a extração da GSH a temperatura foi de 30°C e foram testadas concentrações de etanol (20, 40 e 60%), tempos (2, 4, 6, e 16 h) e extrações em banho termostatizado, ultrassom e homogeneizador.

Resultados: Ao utilizar-se 20% de etanol ou extração por 16 h, obteve-se os menores valores de GSH, independente do equipamento. No ultrassom, o melhor resultado foi observado em 72 h de fermentação, com 79,1 mg/L de GSH sendo a extração com 40% de etanol. A maior concentração de GSH obtida foi de 85,5 mg/L com o homogeneizador em 72 h de fermentação, 2 h de extração e 40% de etanol.

Conclusão: Verifica-se que o homogeneizador e o ultrassom foram mais eficazes para extração de GSH, utilizando 40% de etanol e 2 h de extração.

PÔSTERES / POSTER

AUMENTO DA PRODUÇÃO DE LACASE PELA DIMINUIÇÃO DA RELAÇÃO CARBONO/NITROGÊNIO

Mateus Pasko dos Santos¹, Érica Clarissa D'Agostini¹, Juliana Silveira do Valle¹, Luzia Doretto Paccola-Meirelles², Nelson Barros Colauto¹, Giani Andrea Linde¹

¹Laboratório de Biologia Molecular – Universidade Paranaense – Campus Sede, Praça Mascarenhas de Moraes 4282 – Umuarama –Paraná – 87502-210

Introdução: A casca de soja tem sido muito utilizada para a alimentação de ruminantes. Entretanto a lignina presente neste material não é digerida pelo animal, reduzindo a eficiência digestiva deste alimento. A lacase é uma enzima oxidativa que hidrolisa compostos fenólicos, como a lignina, sendo fundamental para a exposição e hidrolise da celulose por celulases.

Objetivo: este trabalho avalia a adição de diferentes fontes e concentrações de nitrogênio aprotéico para a produção de lacase por fungos *Pleurotus ostreatus*, *Lentinula edodes* e *Agaricu. brasiliensis*.

Métodos: Os fungos foram crescidos meio de cultivo composto por casca de soja com adição de uréia (U) e/ou sulfato de amônio (SA) obtendo-se relações C/N de 5, 15, 20, 30 e 35. Foi determinado o crescimento micelial longitudinal médio e a atividade de lacase por ABTS.

Resultados: o crescimento micelial foi diretamente proporcional à relação C/N com inibição de crescimento em concentrações de nitrogênio superiores a 1,62%. As melhores fontes de N para o crescimento foram SA, SA:U e U para P. ostreatus, de L. edodes e de A. brasiliensis, respectivamente. A produção de lacase foi inversamente proporcional a C/N sendo os maiores valores obtidos com C/N 5.

Conclusão: A indução da síntese de lacase e a inibição do crescimento micelial em meios de cultivo com C/N inferior a 20 tornam este processo potencial para a pré-hidrólise de resíduos vegetais mantendo o carbono no meio de cultivo, podendo aumentar a sua biodisponibilidade.

²Universidade Estadual de Londrina

ISOLAMENTO E SELEÇÃO DE BACTÉRIAS DE LODO INDUSTRIAL CAPAZES DE DEGRADAR GLICEROL PARA PRODUÇÃO DE BIOPRODUTOS

<u>Daniele M. Rossi</u>, Janaína B. da Costa, Maria do Carmo R. Peralba, Dimitrius Samios, Marco A. Z. Ayub

Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves, 9500, Porto Alegre, RS, Brasil.

Objetivo: O presente trabalho teve como objetivo isolar e caracterizar bactérias provenientes de lodo industrial capazes de utilizar glicerol como fonte de carbono para a produção de bioprodutos como 1,3 Propanodiol e hidrogênio.

Matérias e Métodos: O isolamento foi feito a partir de um ensaio em bioreator submerso (BSTR) de 2L com 70 g/L de glicerol comercial a 35°C, pH controlado em 7,0 e 250 rpm. Amostras foram coletadas a cada 3 horas por 24 horas e diluições seriadas em água peptonada 0,1% foram feitas com posterior plaqueamento em ágar nutriente e ágar McConkey para seleção de enterobactérias. As bactérias isoladas foram crescidas separadamente em condições aeróbias e anaeróbias em shaker a 35°C, 180 rpm por 24 horas.

Resultados: Foram isoladas 32 bactérias que foram caracterizadas quanto à forma, cor, superfície, configuração da colônia e coloração de Gram. Destes isolados 6 bactérias apresentaram produção de 1,3 propanodiol, sendo que 3 obtiveram maior produção (1 g/L) em condições aeróbias.

Conclusão: O estudo mostrou que o isolamento foi efetivo na seleção de bactérias produtoras de 1,3 PD e hidrogênio, visto que foram selecionadas 3 cepas produtoras de 1,3 PD e análises cromatográficas indicaram a presença de hidrogênio em biorreator. Estudos posteriores com as bactérias selecionadas serão realizados para o estudo do hidrogênio.

PRODUÇÃO DE XILANASE EXTRACELULAR PELO FUNGO FILAMENTOSO ASPERGILLUS TERREUS

<u>Michele Sorgatto¹</u>; Karina Justo Custódio Dias¹; Nelciele Cavalieri De Alencar Guimarães¹; Maria Rita Marques¹; Yvelise Maria Possiede¹; Fabiana F. Zanoelo²; Giovana C.Giannesi¹

¹Laboratório de Bioquímica e Biologia Geral -CCBS, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Cidade Universitária, Caixa Postal 549, 79070-900- Campo Grande-MS, Brasil. ²Laboratório de Química –CPAN/DAM, UFMS, Av.Rio Branco 1270, 79304-020-Corumbá-Ms, Brasil.

E-MAIL: misorgatto@gmail.com

Objetivo: O objetivo deste trabalho foi produzir e caracterizar a atividade da xilanase extracelular do *Aspergillus terreus*.

Métodos: O fungo foi cultivado em Erlenmeyer de 125mL contendo meio líquido SR (Rizzatti, 2001) acrescido de 1% fonte de carbono (bagaço-decana, palha de arroz, farelo de trigo, sabugo de milho, glicose e sacarose) mantido sob condição estacionária e sob agitação por um período de 24-144 horas à 30°C, avaliando-se as condições ótimas de cultivo e da atividade xilanolítica. O fungo também foi cultivado em meio M₈ acrescido de xilana ou farelo de trigo como forma comparativa ao meio líquido SR.

Resultados: Em relação aos resíduos avaliados o farelo de trigo propiciou uma alta atividade xilanolítica, representado na tabela. Em meio líquido M₈ a atividade da xilanase foi semelhante à obtida em meio SR acrescido de farelo de trigo demonstrando que este é um bom indutor para produção da enzima. Para o cultivo em meio sob agitação houve uma superioridade da atividade da xilanase extracelular em relação à condição estacionária, tendo uma produção máxima da enzima após 48 horas sob agitação. A temperatura e pH ótimos para a atividade enzimática foram 55°C e 5.5, respectivamente.

Fonte de carbono	Unidades totais	Proteínas totais	AE
Bagaço de cana	2223	43	51
Palha de arroz	838	39	21
Farelo de trigo	5124	79	65
Sabugo de milho	3152	58	54
Sacarose	1108	26	42
Glicose	774	34	23

AE: U/mg de proteína.

Conclusão: A produção de xilanase utilizando como substratos resíduos agroindustriais apresentaram resultados satisfatórios por serem formas alternativas de produção da xilanase.

SELEÇÃO DE FUNGOS FILAMENTOSOS PRODUTORES DAS ENZIMAS AMILASE, CELULASE E XILANASE

Michele Sorgatto¹; Karina J. Dias¹; Nelciele C. De A. Guimarães¹; Camila De. A. Barbosa¹; Clarice R. Marchetti¹, Valdivia R. Morceli¹; Maria Rita Marques¹; Yvelise M. Possiede¹; Fabiana F. Zanoelo²; Giovana C.Giannesi¹ Laboratório de Bioquímica e Biologia Geral -CCBS, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Cidade Universitária, Caixa Postal 549, 79070-900-Campo Grande-MS, Brasil. ²Laboratório de Química –CPAN, UFMS, Av.Rio Branco 1270, 79304-020-Corumbá-Ms, Brasil.

E-MAIL: misorgatto@gmail.com

Objetivo: O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial quanto à produção das enzimas amilase, celulase e xilanase dos 56 fungos isolados de *Memora peregrina* (Miers) Sandwith.

Métodos: Os fungos em estudo foram isolados do rizoma de plantas de *Memora peregrina* coletadas na Fazenda Ouro Verde em Rochedo – MS. Os 57 fungos foram analisados para avaliar seus potenciais quanto à produção das enzimas amilase, celulase e xilanase, em resposta a presença de amido (meio M5), carboximetilcelulose (meio LB) e xilana (meio M5), respectivamente. Foi utilizada a técnica de coloração com vermelho congo (celulase, xilanase) e iodo (amilase) para verificar a atividade das enzimas pela formação de halos. A produção de atividade de xilanase, amilase e celulase foram realizadas em meio líquido SR (Rizzatti, 2001), acrescido 1% fonte de carbono com os fungos que apresentaram atividade através da formação de halos em meio sólido.

Resultados: Em meio sólido dos 56 fungos avaliados a amilase foi detectada em 23 linhagens, para celulase 26 e para xilanase foram 36 fungos produtores da enzima considerando a presença de halo no meio. Em meio líquido a celulase não apresentou atividade enzimática favorável para nenhum dos 23 fungos; a amilase apresentou atividade específica de 112,8 e 77,1 U/mg ptn para *Emericella* e *Paecilomyces* – 91 U/mg ptn, enquanto a xilanase teve como produtores os gêneros *Emericella* – 84,6U/mgptn, *Paecilomyces* – 72,9U/mgptn, *Penicillium* – 120 U/mgptn e *Aspergillus* - 65U/mgptn, conforme tabela abaixo.

Enzima	Nº fungos produtores em	N° fungos produtores em	
	meio sólido	meio líquido*	
Amilase	23	03	
Celulase	26	0	
Xilanase	36	11	

^{*:} Para valores acima de 50 U/mg ptn.

Conclusão: Estes resultados indicam que os microrganismos selecionados e o processo de cultivo têm grande potencial de aplicação biotecnológica e poderão ser utilizados em estudos futuros.

PRODUÇÃO DE AMILASE POR FUNGOS FILAMENTOSOS

<u>Pamela C. M. Pereira¹</u>; Izabela B. Oliveira¹; Giovana C. Giannesi²; Fabiana F. Zanoelo¹

¹Laboratório de Química–CPAN/DAM, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Av.Rio Branco 1270, 79304-020-Corumbá-MS, Brasil.

²Laboratório de Bioquímica-CCBS/DMF, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Cidade Universitária, Caixa Postal 549, 79070-900- Campo Grande-MS, Brasil.

E-mail: pamcat_52@hotmail.com

Objetivo: O objetivo deste trabalho foi isolar fungos filamentosos de solo e matéria orgânica em decomposição e avaliar a produção de amilase em meios de cultura sólido e líquido.

Métodos: Os fungos foram coletados do solo e matéria orgânica em decomposição e isolados pelo método de plaqueamento com diluições sucessivas em meio BDA (batata-dextrose-ágar). Após o isolamento, os fungos foram testados quanto à capacidade de produção de amilase em meio sólido CP (Peixoto *et al*, 2001) suplementado com amido 1%, e o halo de hidrólise foi visualizado pela incubação com iodo 1%. Posteriormente os fungos bons produtores de amilase foram crescidos em Meio líquido M₈ com diferentes fontes de carbono, por até 120 horas à 30°C sob agitação constante de 100rpm. O meio foi filtrado e a solução obtida foi utilizada para a determinação das atividades enzimáticas extracelular. A atividade amilolítica foi realizada através da reação com ácido 3,5'dinitrosalicílico (DNS)(Miller 1959), e a dosagem de proteína foi quantificada pelo método de Lowry (1951).

Resultados: Foram isolados 45 fungos filamentosos, e destes 13 fungos produziram quantidade significativa de amilase, apresentado um halo de hidrólise igual ou superior a 0,5 cm. Os fungos denominado 1aBa e 2Va que se destacaram na produção de amilase com halos de hidrólise de 3,0 e 5,0 cm foram cultivados em 4 diferentes meios líquidos suplementado com amido e fonte de carbono alternativa. Dentre os meios testados o meio CP foi aquele favoreceu a produção da enzima, apresentando uma atividade específica de 42 U/mg prot. e 55U/mgprot. para os fungos 1aBa e 2Va, respectivamente, quando foi utilizando farelo de trigo e bagaço de cana como fonte de carbono.

Conclusão: Os resultados obtidos indicam que os fungos isolados possuem grande potencial para produção amilases quando crescidos em substratos alternativos como farelo de trigo e bagaço de cana.

Apoio Financeiro: Fundect, CNPq

PERFIL ENZIMÁTICO E TEOR EM FENÓLICOS DE DIVERSOS BASIDIOMICETOS CULTIVADOS EM CASCA DE MARACUJÁ

Adriana Zilly, Cristina G. M. de Souza, Rosane Marina Peralta.

Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular – Universidade Estadual de Maringá – PR, Brasil.

E-mail: aazilly@bol.com.br

Objetivos: avaliar o uso do resíduo casca de maracujá como substrato para crescimento de diferentes basidiomicetos.

Material e Métodos: Os cultivos de basidiomicetos (Pleurotus ostreatus, Agaricus blazei, Macrocybes titans 131, Macrocybes titans 141, chrysosporium, Phanerochaete Ganoderma lucidum e Pleurotus pulmonarius) foram realizados em frascos Erlenmeyer 250 ml contendo 8 g de casca de maracujá moída como substrato suplementadas com solução mineral de Vogel e umidade inicial de 75% por 20 dias (10 dias para P. chrysosporium) a 28 °C. Cultivos em quadruplicatas foram realizados, sendo que as extrações foram realizadas com água ou etanol 70%. Os extratos aquosos serviram para dosagens das enzimas hidrolíticas (amilase, xilanase, poligalacturonase, beta-xilosidade, beta-galactosidase e betaglicosidase) e oxidativas (lacase e manganês peroxidase). Nos extratos hidroalcoólicos determinou-se as concentrações de compostos fenólicos, flavonóides bem como as atividades antioxidantes do resíduo fermentado.

Resultados: Nestas condições, M. titans 141 foi o maior produtor de lacase (10.168 U/L) e poligacturonase (1720 U/L). P. chrysosporium produziu maiores quantidades de beta-xilosidade (13.600 U/L) e beta-glicosidade (18.510 U/L) e foi o único que produziu alguma manganês peroxidase (111 U/L). Os melhores produtores de beta-galactosidase foram *P. ostreatus* e *P.* pulmonarius (6.000 U/L). Todos os basidomicetos testados apresentaram atividades de xilanase e amilases abaixo de 1000 U/L. A casca de maracujá apresentou teor em compostos fenólicos de 657,72 mg/L, de flavonóides de 96,63 mg/L e uma atividade antioxidante de 8,7%. P. chrysosporium foi o mais eficiente dos basidiomicetos em aumentar os teores. Após a hidroalcoólicos apresentaram fermentação, OS extratos teores compostos fenólicos, flavonóides e atividade antioxidante de 1136,80 mg/L, 354,48 mg/L e 66,40%, respectivamente.

Conclusão: O resíduo de maracujá é um substrato viável de ser utilizado nos cultivos de basidiomicetos para a produção de enzimas e de compostos anti-oxidantes. *Macrocybes titans*, um basidiomeeto ainda inexplorado, apresentou-se como excelente produtor de lacases.

CELLULASES AND HEMICELLULASES FROM Aspergillus japonicus, Penicillium citrinum and Penicillium chrysogenum FOR SUGAR CANE BAGASSE SACCHARIFICATION

¹Costa, S. G., ¹de Rezende, S. T., ¹Mayrink, M. I. C. B., ²Pereira, O. L., ¹Guimarães, V. M.

¹Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Brazil; ² Departamento de Fitotecnia e Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Brazil

Objective: One of the major challenges to make the second generation ethanol economically viable is reduce the cost of enzyme production to cellulose and hemicelluloses hydrolysis. Furthermore there is interest in obtaining new, more specific and stable enzymes.

Methods: In this work, *A. japonicus, P. citrinum* and *P. chrysogenum* were cultivated in submerged culture containing wheat bran as carbon source, for production of cellulases and hemicellulases. Saccharification of crushed and milled sugar cane bagasse with A. japonicus extract were analyzed. The hydrolysis was conducted at 32 or 50 °C and in a dilution of bagasse enzymatic extract of 5 or 10% (p/v) at 100 rpm, aliquots were taken in intervals of 5 hours.

Table 1: Aspergillus japonicus, P. citrinum and P. chrysogenum enzyme activity in submerged culture utilizing wheat bran as a carbon source.

	β-Xylosidase	α-galactosidase	Xylanase	Celobiase	β-glucosidase	Endoglucanase	FPase
A. japonicus	0.092 ¹²⁰	0.119 ¹²⁰	49.2 ¹²⁰	0.351 ¹⁶⁸	1.79 ¹⁶⁸	2.19 ¹²⁰	3.26 ¹²⁰
P. citrinum	0.027120	0.595 ²⁴⁰	11.1 284	0.333192	1.34 192	0.202 284	0.113 ⁴⁸
P. chrysogenum	0.091182	0.762 ²⁴⁰	23.1 ¹²⁰	0.470 ¹⁸⁸	1.50 ¹⁸⁸	0.336 ²⁸⁴	0.141 ²⁴⁰

^{*}Superscript numbers means the day of maximal activity

Results: Xylanases, endoglucanases, β -glucosidases and β -xylosidases of three fungi were characterized, these enzymes showed highest activities at 50, 55, 60, and 55 0 C respectively, and at pH between 4.6 and 5.6, they also showed high thermostability at 50 0 C. In saccharification efficient crushed bagasse hydrolysis was achieved after 5 hours at 50 $^{\circ}$ C and in a dilution of 10%.

Conclusion: The three fungi analyzed showed to be great cellulases and hemicellulases sources and satisfactory sugar cane bagasse saccharification was achieved with *A. japonicus* extract.

UTILIZAÇÃO DE SUSBTRATOS ALTERNATIVOS PARA PRODUÇÃO DE XILANASE PELO FUNGO FILAMENTOSO S3C1

<u>Andréa L. C. Oliveira¹</u>, Roberta V. Ramires¹; Giovana C. Giannesi²; Fabiana F. Zanoelo¹

E-mail: <u>deka657@yahoo.com.br</u>

Objetivo: O objetivo deste trabalho foi avaliar a produção de xilanase pelo fungo filamentoso S3C1 utilizando fontes de carbono alternativas em diferentes meios de cultura.

Métodos: O fungo foi cultivado em Erlenmeyer de 250mL em diferentes meios líquidos: SR (Rizzatti *et al*, 2001), CP (Peixoto *et al*, 2001), M₈ (Peralta *et al* 1990), M₅ acrescido de 1% fonte de carbono (bagaço-de-cana, germe de trigo, farelo de trigo, sabugo de milho e xilana como controle). O fungo foi mantido sob agitação constante de 100 rpm por um período de até 72 horas à 30°C, e após esse período o meio foi filtrado à vácuo, e a solução obtida foi utilizada para a determinação das atividades enzimáticas extracelular. A atividade xilanolítica foi medida pela quantificação de açúcar redutor (Miller 1959) utilizando xilana birchwood (Sigma) como substrato, e a dosagem de proteína foi realizada pelo método de Lowry (1951).

Resultados: Dentre as fontes de carbono testadas o farelo de trigo foi o que propiciou uma alta atividade xilanolítica em Meio SR (Rizzatti *et al*, 2001) (tabela). Em meio líquido M_8 acrescido de germe de trigo a atividade da xilanase foi significativa, demonstrando uma segunda alternativa para o cultivo.

Fonte de carbono	U/mL	mg/mL	AE
Bagaço de cana	0,48	0,12	40
Germe de trigo	0,86	0,013	66,53
Farelo de trigo	1,37	0,008	171,25
Sabugo de milho	1,31	0,012	109,16
Xilana (Controle)	1,14	0,013	87,69

AE: U/mg de proteína.

Conclusão: O fungo produziu quantidades significativas de xilanase quando crescido em farelo de trigo como fonte de carbono, e são superiores as demais fontes testadas. A utilização de substratos alternativos apresentaram resultados satisfatórios para a produção da xilanase do fungo filamentoso S3C1.

Apoio Financeiro: Fundect, CNPq

¹Laboratório de Química—CPAN/DAM, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Av.Rio Branco 1270, 79304-020-Corumbá-MS, Brasil.

²Laboratório de Bioquímica-CCBS/DMF, UFMS, Cidade Universitária, Caixa Postal 549, 79070-900- Campo Grande-MS, Brasil.

CELLULASES AND HEMICELLULASES FROM ENDOPHYTIC Acremonium species

Almeida, Maíra Nicolau^a; Gonçalves, Dayelle Sâmila Pessotti de Oliveira^a; Camargo, Brenda Rabello^a; Falkoski, Daniel Luciano^a; Guimarães, Valéria Monteze^a; Pereira, Olinto Liparini^b; de Rezende, Sebastião Tavares^a Biochemistry and Molecular Biology Department, Phytopathology Departament^b, Federal University of Viçosa; Av. P. H. Rolfs, Viçosa-MG, Brazil

Objective: The aim of this work was have a cellulase and hemicellulase production screening of endophyte *Acremonium* species (*Acremonium zeae* and *Acremonium* sp.) and test the sugar cane bagasse saccharification potential.

Methods: The fungi were cultivated in submerged culture, at 28° C, 180 rpm containing L-arabinose, D-xylose, oat spelt xylan, sugar cane bagasse or corn straw as a carbon source. Aliquots were taken everyday for a period of 23 days and FPases, endoglucanases, β-glucosidases, xylanases, α-galactosidases, α-arabinofuranosidases and β-xylosidases activities were analyzed. Enzyme production in solid state fermentation utilizing sugar cane bagasse or corn straw as a carbon source and support was also tested. In this case, enzyme production was analyzed at 3 day intervals for a period of 39 days. The extracts with highest enzymes activities were characterized. A selected sample with high FPase, endoglucanase and β-glucosidase activities was utilized to bagasse saccharification.

Results: The highest FPase, endoglucanase and xylanase activities were obtained when *Acremonium* sp. and *Acremonium zeae* were cultivated in submerged culture containing sugar cane bagasse and corn straw as a carbon source. *Acremonium* sp. show the highest β-glucosidase activity when it was cultivated in submerged culture using D-xylose as carbon source. *Acremonium zeae* exhibit greatest α-arabinofuranosidase and α-galactosidase activities when it was cultivated in submerged culture utilizing xylan as a carbon source. FPase, endoglucanase, β-glucosidase and xylanase from *Acremonium* sp. were found to have optimum pH and temperatures of 6.0, 55 °C; 5.0, 70 °C; 4.5, 60 °C and 6.5, 50 °C, respectively. α-Arabinofuranosidase and α-galactosidase from *Acremonium zeae* have optimum pH and temperatures of 5.0, 60 °C and 4.5, 45 °C, respectively. Efficient acid pre-treated bagasse saccharification was achieved at 35 °C, 100 rpm after 10 hours.

Conclusion: *Acremonium zeae* and *Acremonium* sp. shown to be good cellulases and hemicellulases sources and more studies are needed to optimize their growth conditions.

CARACTERIZAÇÃO ENZIMÁTICA DA CATECOL 1,2 DIOXIGENASE PRODUZIDA POR Microbaterium oxydans EU373400.1

<u>Cátia T. dos Passos</u>, Márcia de C. Orantas, Fátima Menezes Bento, Flávio A. de O. Camargo

Departamento de Ciências Básicas da Saúde, PPG em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Laboratório de Biorremediação – Faculdade de Agronomia, UFRGS. Av. Bento Gonçalves, 7712, Bairro Agronomia Cx. Postal 15100, 91501-970 - Porto Alegre – RS, Brasil

E-mail: catia_passos@yahoo.com.br

Objetivo: O objetivo deste trabalho foi caracterizar a enzima catecol 1,2 dioxigenase produzida pela bactéria *Microbacterium oxydans* <u>EU373400.1</u>, para definir os melhores parâmetros do uso desta enzima.

Material e Métodos: A bactéria utilizada foi isolada de serragem de couro, a qual apresentou alta capacidade de degradação de fenol. Foi realizado o crescimento desta bactéria em erlenmeyer de 125 mL, contendo 50 mL de caldo nutritivo acrescido de 250 mg/L de fenol por 48 h, 190 rpm à 30 °C. Após separação das células do meio de cultivo, por centrifugação, estas foram ressuspendidas em tampão pH 7. O rompimento celular foi realizado por sonicação em banho de gelo. Após, o extrato celular foi centrifugado e utilizado o sobrenadante. Os ensaios para determinar a atividade da enzima catecol 1,2-dioxigenase foram medidos espectrofotométricamente por formação de ácido cis, cis mucônico a 260 nm, variando-se o pH da reação (4 a 9), temperatura (10 a 100°C), tempo de reação (10 a 120 min) e presença íons (Cu, Mg, Hg, Mn, k, Fe e amônia). Uma unidade de enzima foi definida como a quantidade de enzima que catalisa o consumo de 1 mmol de produto por minuto. A quantidade de proteína foi determinada pelo método de Bradford.

Resultados: A partir dos ensaios realizados, foi observado que a enzima apresentou maior atividade para o pH de 8,5, tempo de reação de 20 min, à 30 °C. Quanto a presença de íons, o cobre inibiu totalmente a reação enzimática e o manganês reduziu em 98 %. O ferro proporcionou um aumento de 15 % da atividade, já os outros íons não causaram uma alteração relevante.

Conclusão: Com base nos experimentos foi possível estabelecer os melhores parâmetros de uso desta enzima a qual poderá ser utilizada posteriormente em estudos de degradação de fenol.

DETERMINAÇÃO DAS VARIÁVEIS QUE INFLUENCIAM NA ATIVIDADE DA FENOL HIDROXILASE PRODUZIDA POR

Microbaterium oxydans EU373400.1

<u>Cátia T. dos Passos</u>, Márcia de C. Orantas, Fátima Menezes Bento, Flávio A. de O. Camargo

Departamento de Ciências Básicas da Saúde, PPG em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Laboratório de Biorremediação – Faculdade de Agronomia, UFRGS. Av. Bento Gonçalves, 7712, Bairro Agronomia Cx. Postal 15100, 91501-970 - Porto Alegre – RS, Brasil

E-mail: catia_passos@yahoo.com.br

Objetivo: O presente trabalho teve como objetivo estudar as variáveis que influenciam reação da enzima fenol hidroxilase produzida pela bactéria *Microbacterium oxydans* <u>EU373400.1</u>.

Material e Métodos: A enzima foi obtida cultivando a bactéria em erlenmeyer de 125 mL, contendo 50 mL de caldo nutritivo acrescido de 250 mg/L de fenol por 48 h, 190 rpm à 30 °C. Após, foi realizada separação das células do meio de cultivo, por centrifugação e ressuspensão em tampão pH 7. O rompimento celular foi realizado por sonicação, em banho de gelo. O extrato celular foi separado por centrifugação e utilizado o sobrenadante. A atividade da enzima fenol hidroxilase foi medida espectrofotométricamente pela diminuição da absorbância a 340 nm, devido à oxidação do NADPH, variando-se o pH da reação (4 a 9), temperatura (10 a 100 °C), tempo de reação (10 a 110 min) e presença íons (Cu, Mg, Hg, Mn, k, Fe e amônia). A unidade de enzima foi definida como a quantidade de enzima que catalisa a conversão de um mmol de substrato para produto por minuto. A quantidade de proteína foi determinada pelo método de Bradford.

Resultados: A partir dos ensaios realizados foi observado que a enzima apresentou maior atividade para a temperatura de 50 °C, 10 min de reação e pH 5, apresentando alta atividade até a temperatura de 80 °C, mostrando que essa enzima é termoestável. Quatro dos íons testados inibiram totalmente a ação da enzima (Fe, Mn, Hg e amônia), sendo que os outros íons diminuíram cerca de 30 % da atividade enzimática. Com isso, deve-se optar por não utilizá-los no meio de reação.

Conclusão: Com base nos experimentos foi possível estabelecer as variáveis que favorecem a atividade enzimática, no entanto observou-se que a presença de íons afetam a ação desta enzima.

CULTIVO DE *PICHIA pastoris* PARA A EXPRESSÃO CONSTITUTIVA DE α-AMILASE DE *BACILLUS subtilis*

Inti D.C. Montano¹; Carlos A.G. Suarez¹; Adilson J. da Silva¹; Antonio C. L. Horta¹; Fernando Araripe²; Raquel L. C. Giordano¹ e Roberto C. Giordano¹

¹Universidade Federal de São Carlos – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química; Caixa Postal 676 – 13565-905 São Carlos – SP

²Universidade de Brasília – Depto. de Biologia Celular

E-mail: roberto@ufscar.br

Objetivo: Realizaram-se cultivos de *Pichia pastoris* recombinante em batelada e batelada alimentada, usando biorreator de 5L, para definição de modelo cinético de crescimento e produção da enzima heteróloga. Esse modelo será posteriormente utilizado para proposição de perfis de alimentação de meio suplementar.

Materiais e métodos: A cepa *Pichia pastoris* GS115, foi pré-inoculada em frascos de 500 mL contendo 10 mL de meio YPD (10 g/L de Extrato de levedura, 20 g/L de Peptona e 20 g/L de glicose). Os frascos eram incubados em câmara rotativa a 30°C e 250 rpm durante 24h. O pré-inoculo foi transferido a frasco de 1000 mL contendo 200 mL do meio YPD e mantidos a 30°C e 250 pm durante 24h. O biorreator foi inoculado com 20 mL de solução concentrada de células dando início ao cultivo. Amostras foram utilizadas para determinação da concentração celular, atividade enzimática e acompanhamento da fonte de carbono e ácidos orgânicos.

Resultados: Utilizando os algoritmos *SimulatedAnnealing* (SA) e LevenbergMarquardt (LM) foi ajustado modelo de Monod, com termos de morte e manutenção:

$\mu_{\text{max}}(h^{-1})$	$K_S(g/L)$	$K_D(h^{-1})$	$Y_{X/S}$	$m(h^{-1})$
0,25	0,014	0,0016	0,36	0,0

Altos níveis de expressão da enzima foram obtidos, alcançando-se 284 U/ml. Atingiu-se uma densidade celular de 50g/L.

Conclusões: Cultivos em batelada alimentada são eficazes para promover aumento de produtividade do processo de produção de α-amilase recombinante, expressa constitutivamente e, portanto, associada ao crescimento. Os algoritmos utilizados foram robustos, permitindo a estimativa eficiente dos parâmetros do modelo.

PRODUÇÃO DAS ENZIMAS XILANASE E \(\beta\)-GLICOSIDASE PELO FUNGO \(Aspergillus \) awamori EM DIFERENTES FONTES DE NITROGÊNIO

Raquel S. Paredes; Leda M. F. Gottschalk; Elba P. S. Bon.

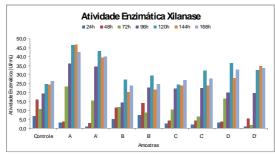
Universidade Federal do Rio de Janeiro; Av. Athos da Silveira Ramos, 149, Bloco A - 21941-909, Rio de Janeior, Brasil.

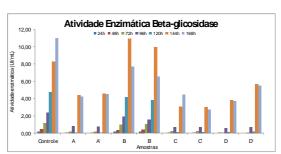
E-mail: quel.paredes@globo.com

Objetivo: O presente trabalho teve como objetivo avaliar a produção das enzimas xilanase e beta-glicosidase pelo fungo *Aspergillus awamori* em diferentes fontes de nitrogênio.

Metodologia: O microorganismo foi cultivado a 30°C e 200 RPM em meio de sais (3,0 g/L KH₂PO₄; 6,0 g/L K₂HPO₃; 0,2 g/L MgSO₄.7H₂O; 0,05g/L CaCl₂.2H₂O; 0,01g/L MnSO₄.7H₂O; 0,001g/L ZnSO₄.7H₂O) utilizando como fonte de carbono 30 g/L de farelo de trigo. Foram avaliadas diferentes fontes de nitrogênio como nitrato de sódio (meio A), extrato de levedura (meio B), sulfato de amônio (meio C) e uréia (meio D) na concentração adequada de modo a manter a mesma relação C/N em todos os experimentos (C/N de 10). As atividades enzimáticas xilanase e betaglicosidase foram medidas utilizando-se xilana 1% e celobiose como substratos, respectivamente.

Resultados: Os resultados obtidos mostraram que o meio de cultivo contendo o extrato de levedura favoreceu a produção de beta-glicosidase com níveis máximos de 12 UI/mL. Em relação à produção de xilanase, o nitrato de sódio proporcionou a maior produção com níveis de atividade de 50 UI/mL.





Conclusão: Os resultados deste trabalho indicam que o complexo enzimático produzido por *A. awamori* em extrato de levedura e nitrato de sódio como fontes de nitrogênio possuem um grande potencial para aplicação biotecnológica.

Agradecimentos: CNPq, FINEP, MCT.

SELEÇÃO DE LEVEDURAS SILVESTRES COM POTENCIAL PARA PRODUÇÃO DE CELULASES

Rosana Goldbeck; Abraão B. Peixoto; Francisco Maugeri Filho Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Departamento de Engenharia de Alimentos, Laboratório de Bioprocessos, Caixa Postal: 4161, CEP: 13083-862, Campinas – SP, Brasil. E-mail: rosanag@fea.unicamp.br

Objetivo: Este trabalho teve como objetivo selecionar leveduras silvestres isoladas de diversas regiões brasileiras que apresentaram potencial para produção de ceulases.

Materiais e Métodos: As leveduras armazenadas no banco de culturas do Laboratório de Engenharia de Bioprocessos (LEB) - FEA/UNICAMP foram selecionadas através da capacidade de degradação da carboximetilcelulose e da celulose como únicas fontes de carbono em meio sólido. Após o cultivo em meio sólido, as leveduras foram cultivadas em meio líquido contendo celulose, 20 g/L; extrato de levedura, 0,60 g/L; KH₂PO₄, 7 g/L; K₂HPO₄, 2 g/L; MgSO₄.7H₂O, 0,15 g/L; (NH₄)₂SO₄, 1 g/L; FeSO₄.7H₂O, 0,01 g/L e KCl, 0,50 g/L, pH 5,5, à 30°C, 150 rpm por 240 h. Para verificação da capacidade hidrolítica da enzima produzida foram determinadas 3 atividades específicas: CMCase, FPase e Celobiase.

Resultados: A Tabela 1 apresenta os resultados de atividade hidrolítica das enzimas produzidas pelas 5 cepas de leveduras cultivadas em meio líquido.

Tabela 1: Atividade de CMCase, FPase e Celobiase para as 5 cepas de leveduras selecionadas após 120 e 240 horas de fermentação.

		_		
Levedura	Tempo (h)	CMCase	FPase (U/mL)	Celobiase
		(U/mL)		(U/mL)
AAP7	120	0,17	0,03	0,02
	240	0,16	0,03	0,01
AAJ6	120	0,30	0,04	0,01
	240	0,33	0,04	0,01
AAG16	120	0,17	0,03	0,02
	240	0,18	0,03	0,02
AAQ5	120	0,17	0,02	0,02
	240	0,16	0,03	0,01
L03	120	0,17	0,03	0,02
	240	0,25	0,04	0,04
	-0		·	

Conclusão: A cepa nomeada AAJ6 foi quem apresentou a maior atividade de CMCase (0,33 U/mL) após 240 horas de fermentação. Esta cepa foi selecionada e será identificada na próxima etapa do trabalho.

COMPORTAMENTO DAS ENZIMAS XILOSE REDUTASE E XILITOL DESIDROGENASE DE Candida guilliermondii CULTIVADA EM HIDROLISADO HEMICELULÓSICO DE BAGAÇO DE CANA DESTOXIFICADO COM POLÍMERO VEGETAL.

<u>Luciana C. S. Chaud¹</u>, Priscila V. de Arruda¹, Rozelle C. Corrêa¹ Maria das Graças de A. Felipe¹

¹Universidade de São Paulo – Escola de Engenharia de Lorena – Depto. de Biotecnologia, Estrada Municipal do Campinho, s/nº- 12602-810, Lorena-SP- e-mail: <u>lu_chaud@debiq.eel.usp.br</u>

Objetivo: O presente trabalho avalia o efeito da destoxificação do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana-de-açúcar com polímero vegetal sobre as atividades das enzimas xilose redutase (XR) e xilitol desidrogenase (XDH) de *Candida guilliermondii*, responsáveis pelos passos iniciais da conversão de xilose em xilitol.

Material e Métodos: O hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana, constituído (g/L): glicose (8,89), xilose (77,26), arabinose (6,52), ácido acético (5,28) e compostos fenólicos (12,74), foi submetido à floculação por polímero vegetal a base de tanino (15% v/v), utilizando-se frascos Erlenmeyer sob agitação a 200 rpm, 25°C por 15minutos. Após centrifugação para descarte do precipitado, o hidrolisado teve seu pH ajustado para 5,5, foi autoclavado e suplementado com nutrientes. As fermentações foram realizadas com *C. guilliermondii* em frascos Erlenmeyer, 200 rpm, 30°C por 120 horas. Experimento controle empregando hidrolisado não destoxificado (pH 5,5) também foi realizado. As concentrações dos açúcares e do ácido acético foram determinadas por HPLC, enquanto o teor de fenóis totais, concentração celular e atividades de XR e XDH por espectrofotometria.

Resultados e Conclusão: A destoxificação com polímero, reduziu 53,68 e 17,52% as concentrações de fenólicos e ácido acético respectivamente, favorecendo o desempenho da levedura, visto que o consumo de xilose foi de 96,66% com a destoxificação e 74,21% sem a destoxificação. Por outro lado os maiores parâmetros de rendimento e produtividade de xilitol foram alcançados no hidrolisado não destoxificado (controle) o que pode ser justificado pelo fato de que a destoxificação proporcionou o máximo valor de atividade de XDH (0,5320 U/mg_{proteína}) favorecendo a oxidação de xilitol em xilulose, enquanto para a XR o máximo valor obtido (0,4456 U/mg_{proteína}) ocorreu no experimento controle. Considerando-se a biodegradabilidade e baixo custo dos polímeros vegetais, experimentos em andamento buscam favorecer a atividade da XR em detrimento da atividade da XDH a fim de otimizar a produtividade de xilitol.

EFEITO DA ADIÇÃO DE NARINGINA E PÓ DE JUÁ NA PRODUÇÃO DE NARINGINASE POR Aspergillus niger

Giuliana C. Coatti¹, João B. Buzato¹, Maria Antonia P.C. Celligoi¹ e Adriana C. Petri¹

¹Universidade Estadual de Londrina – Depto. de Bioquímica e Biotecnologia Caixa postal 6.001 Londrina – PR

Rodovia Celso Garcia Cid, Pr 445 Km 380

Email: buzato@uel.br

Introdução: O Brasil é o maior produtor de laranja. Aproximadamente 72% das laranjas produzidas são transformadas em suco concentrado e destinado à exportação. O excesso de amargor, devido à presença de naringina, diminui o valor de mercado do suco. Tecnologias têm sido propostas para remoção deste amargor, mas alteram características organolépticas dos sucos e assim têm aplicação limitada. Outra opção é através da hidrólise enzimática pela naringinase. A produção de naringinase por fermentação fúngica é interessante devido à possibilidade de utilização de substratos como o melaço e pó-de-juá que são matérias-prima da agroindústria e disponíveis no Brasil.

Objetivo: Nesse trabalho avaliou-se o efeito da adição de naringina e pó-dejuá ao meio de fermentação na produção de naringinase.

Métodos: O meio básico (MB) era composto de (g/L): melaço 3; extrato de levedura 14; MgSO₄.7H₂O 0,5; FeCl₃.7H₂O 0,1; KCl 0,5 e KH₂PO₄ 1; NaNO₃ 2. Na primeira etapa as fermentações foram conduzidas em três meios de cultura: MB acrescido de naringina (10g/L), MB adicionado de pó de juá (10g/L) e MB com naringina (5g/L) e pó de juá (5g/L). Na segunda etapa, no MB a quantidade de naringina foi de 0,2g/L e o pó-de-juá 5; 7,5 e 10g/L. Os experimentos foram em triplicata, em erlenmeyer de 125 mL, 180rpm e em 28°C. O inóculo foi de 2,5 mL de uma suspensão de 10⁶esporos/mL. A atividade enzimática, determinada segundo Davis (Davis, 1947), é definida como a quantidade de enzima para hidrolisar 1μmol de naringina por mL por minuto.

Resultados: A maior atividade obtida de naringinase, na primeira etapa, foi 2,8UI em 120 horas de fermentação com a adição de naringina e pó de juá no MB. Enquanto que na segunda etapa foi de 2,6UI.

Conclusão: A segunda etapa mostrou-se mais vantajosa, pois utilizou menor quantidade de naringina (cerca de 25 vezes menor).

PRODUÇÃO SIMULTANEA DE RAMNOSIDASE E NARINGINASE POR Aspergillus niger EM FERMENTAÇÃO EM ESTADO SÓLIDO

Adriana C. Petri, João B. Buzato, Maria Antonia P.C. Celligoi e <u>Giuliana C.</u> Coatti

Universidade Estadual de Londrina – Depto. de Bioquímica e Biotecnologia Caixa postal 6.001 Londrina – PR

Rodovia Celso Garcia Cid, Pr 445 Km 380

Email: andri_petri@hotmail.com

Objetivo: O objetivo deste trabalho foi avaliar a cinética da produção simultânea de ramnosidase e naringinase por *Aspergillus niger* em fermentação em estado sólido (FES) utilizando uma mistura de diferentes suportes.

Métodos: A solução de nutrientes era composta de (g/L): naringina 10; açúcar total 30; extrato de levedura 10; MgSO₄.7H₂O 0,5; FeSO₄.7H₂O 0,135; KCl 0,5; KH₂PO₄ 1; CaCl₂.2H₂O 1,5. Como suporte para a FES utilizou-se uma mistura de bagaço de cana-de-açúcar (0,33g), casca de soja (1,66g) e palha de arroz (2,33g). As diferentes quantidades de suporte representam a quantidade necessária dos mesmos, em reter 1/3 do volume da solução de nutrientes. A umidade do biorreator foi ajustada para 80% com a adição de 12mL da solução de nutrientes. O inóculo foi de 10⁹ esporos/mL de solução de nutrientes. A atividade de ramnosidase, segundo Custodio (1996), é definida como a quantidade da enzima necessária para liberar 1μmol de *p*-nitrofenol por mL por minuto. A atividade de naringinase, determinada segundo Davis (1947), é definida como a quantidade de enzima para hidrolisar 1μmol de naringina por mL por minuto.

Resultados: A maior atividade e produtividade obtidas de ramnosidase foram de 21,19UI e 0,152U/h, respectivamente, em 144 horas de cultivo. Enquanto que, a maior atividade e produtividade obtidas de naringinase foram 2,33UI e 0,014U/h, respectivamente, em 168 horas de fermentação. Esses valores são considerados elevados quando comparados com os obtidos por outros autores.

Conclusão: A naringinase é um complexo enzimático apresentando atividade de ramnosidase e glicosidase, dos quais, a ramnosidase tem maior potencial, por ser mais eficiente, na indústria vinícola, na liberação de compostos aromáticos e na diminuição do amargor, na indústria cítrica. A produtividade de ramnosidase, obtida nesse trabalho, foi 11 vezes superior que de naringinase e com isso, comprova que a FES é viável para a produção principalmente de ramnosidase.

PRODUÇÃO DO COMPLEXO ENZIMÁTICO DE BETA-(1→3)-GLUCANASE POR UM ISOLADO DE LEVEDURA DE UVA MOSCATO BAYLE DA REGIÃO DE LONDRINA

Bauermeister, A¹, Amador, I.R¹, Rezende, M.I.¹, Dekker, R.F.H.², Barbosa, A.M.¹

¹Depto de Bioquímica e Biotecnologia, CCE, Universidade Estadual de Londrina, CEP 86051-990, CX Postal 6001, Londrina –PR, Brasil. ²Biorefining Research Initiative, Lakehead University, Thunder Bay, Ontario, Canada P7B 5E1, * e-mail: aneli@uel.br

Objetivos: Padronizar o inóculo, determinar a melhor fonte de carbono, avaliar a influência de Tween 80 e escolher o tempo de cultivo que proporcionem maior produção de beta-(1→3)-glucanase e beta-glicosidase pelo isolado de levedura 1WA1, previamente selecionado entre 108 microrganismos, para posterior aplicação em vinhos.

Materiais e Métodos: Os cultivos foram desenvolvidos em frascos Erlenmeyer (50 mL), contendo meio mínimo de Vogel (10 mL) e as respectivas fontes de carbono: 0,6 g % (v/v) da beta-glucana botriosferana, ou celobiose ou biomassa de *Botryosphaeria rhodina* 1,0 g % (m/v). Estes, foram mantidos sob agitação constante a 180 rpm a 28 °C, durante 96 horas. Para padronizar o inóculo as células (1 x 10⁷) do isolado de levedura foram obtidas de meio sólido de YEPD (extrato de levedura, peptona e glucose) com 96 horas de cultivo, ou de meio líquido de Vogel com glucose 1,0 % (m/v) de 24 horas de cultivo na presença e ausência de Tween 80 0,1 % (m/v). Uma curva de crescimento da levedura foi acompanhada durante 168 horas, utilizando-se 1,0 % (m/v) de biomassa micelial de *B. rhodina* (*in-natura*) desidratada, interrompendo-se 3 cultivos nos seguintes intervalos de tempo : 0, 6, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 96, 120, 144, 168 horas. As atividades enzimáticas foram determinadas nos extratos livre de células (ECF), utilizando-se laminarina como substrato para beta-glucanase e *p*-NPG para beta-glicosidase (Giese *et al.*, 2005).

Resultados: Maior produção de beta- $(1\rightarrow 3)$ -glucanase e beta-glicosidase foi obtida com as células procedentes de meio sólido de YEPD. A fonte de carbono que proporcionou maior produção de ambas as enzimas foi a biomassa de B. rhodina (*in natura*) desidratada. O Tween 80 não influenciou positivamente a produção de ambas as enzimas. O platô de produção de beta- $(1\rightarrow 3)$ -glucanase (1.6 a 2.0 U/mg) e de beta-glicosidase (0.03 a 0.04 U/mg) foi obtido a partir de 48 horas de cultivo e a atividade foi mantida ate 168 horas, sem decréscimo.

Conclusão: A biomassa micelial do ascomiceto *Botryosphaeria rhodina* foi selecionada como fonte de carbono para a produção do complexo beta-(1-3) glucanolítico e para os futuros experimentos de otimização das enzimas.

Referência: Giese et al., Process Biochem, 40, 2005.

Agradecimentos: Fundação Araucária (Projeto Nº 13056), CAPES/DGU/Projeto Nº 153/08. A. Bauermeister agradece a bolsa de mestrado concedida pela CAPES.

AVALIAÇÃO DA DIGESTIBILIDADE DE BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR DE DIFERENTES GRAUS DE REFINO COM CELULASES COMERCIAIS

Fernanda M. Mendes, André Ferraz, Adriane M.F.Milagres.

Departamento de Biotecnologia, Universidade de São Paulo (EEL-USP), Estrada Municipal do Campinho, CEP:12.602-810- Lorena-SP.

E-mail: fernandamachado@debiq.eel.usp.br

Objetivo: Obter amostras de bagaço de cana-de-açúcar com diferentes graus de refino e avaliar o efeito do pré-tratamento na sacarificação enzimática.

Material e métodos: Bagaço de cana-de-açúcar foi utilizado como matéria-prima para os experimentos. O material com 5% de consistência foi refinado por diferentes tempos a 40°C e o grau de refinamento foi determinado. As amostras de bagaço refinado e *in natura* foram tratados com Novozym e Celluclast na proporção 6:1 v/v. A reação foi feita dentro de tubos com tampa, sob agitação de 120 rpm a 50 ° C por até 96 h. Amostras foram coletadas em tempos definidos, analisando o teor de açúcares no sobrenadante. A composição química das amostras de bagaço *in natura* foi determinada através de hidrólise ácida (72% de ácido sulfúrico a 45 ° C por 7 minutos). As concentrações de açúcares na fração solúvel foram analisadas por HPLC (FERRAZ *et al.*, 2000).

Resultados: A composição química do bagaço de cana-açúcar em estudo foi de 24,5% de lignina, 43,7% de celulose e 27,4% de hemicelulose. O bagaço apresentou um maior grau de refinamento Freeness de 300 ml após 21 minutos no refinador, confirmando o refinamento pela maior retenção de líquido na fibra. A análise das amostras refinadas e *in natura* após a hidrólise enzimática mostrou que conversão foi semelhante entre os dois materiais, provavelmente pela pequena mudança estrutural das fibras após o refinamento. O bagaço refinado após secagem mostrou-se mais compactado e colapsado, dificultando o acesso das enzimas durante a hidrólise enzimática.

Conclusão: O tratamento mecânico do bagaço promoveu uma absorção de água determinado pela diminuição do grau de Freeness, demonstrando que o bagaço foi refinado, porém tal efeito não se mostrou suficiente para uma melhora na conversão enzimática dos carboidratos.

BIOPOLPAÇÃO A PARTIR DE CULTIVOS MISTOS DE CERIPORIOPSIS SUBVERMISPORA E PHANEROCHAETE CHRYSOSPORIUM SOBRE MADEIRA DE EUCALYPTUS GRANDIS

Gina G. S. Cunha; André Ferraz

Departamento de Biotecnologia, Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo; Caixa Postal 116, 12.602-810 - Lorena-SP-Brasil; E-mail: ginagseabra@gmail.com

Objetivos: Avaliar cultivos mistos de *C. subvermispora* e *P. chrysosporium* sobre madeira de *E. grandis* em regimes de temperatura variáveis e em condições não assépticas, a fim de maximizar os benefícios do pré-tratamento biológico para um processo de polpação quimiotermomecânica.

Materiais e Métodos: Cavacos frescos de madeira suplementados com milhocina foram biodegradados em cultivos contendo simultaneamente *C. subvermispora* e *P. chrysosporium*. A incubação foi conduzida por 30 dias sob regimes de temperaturas variáveis entre 27 e 37 °C. Os cavacos biotratados foram digeridos em licor sulfito alcalino e posteriormente desfibrados/refinados em refinador de discos.

Resultados: Os cavacos biotratados não apresentaram indícios de contaminação por fungos oportunistas, mesmo partindo-se de cavacos frescos (não autoclavados) para a realização dos cultivos. Por outro lado, os basidiomicetos em questão colonizaram efetivamente os cavacos que se apresentaram esbranquiçados após 30 dias de cultivo. As curvas de refino mostraram que os cavacos biotratados deram origem a polpas com 300 mL de Freeness (CSF) consumindo 39% menos energia do que o observado para o refino da madeira controle. Como referência pode-se comparar os dados obtidos com o de um cultivo realizado em condições assépticas e otimizadas para *C. subvermispora*. Nessas condições a economia de energia para a preparação de polpas com 300 mL de CSF foi de 68%.

Conclusão: Os dados mostram a possibilidade de se utilizar cultivos mistos de basidiomicetos no processo de biopolpação. O uso de temperatura de incubação inicial elevada (37°C) permitiu ainda o estabelecimento de cultivos livres de contaminantes, mesmo utilizando cavacos frescos como substrato.

Agradecimentos: FAPESP (2008/54829-8), CNPq, CAPES.

COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR

<u>Victor T. O. Santos</u>, Larissa Canilha, Patrícia F. Castro, Laura D. F. O. Barbosa, Adriane M. F. Milagres e Walter Carvalho.

Departamento de Biotecnologia, Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo; Estrada Municipal do Campinho, s/n - LORENA-SP, Brasil.

E-mail: victorsantos@debiq.eel.usp.br

Objetivo: O objetivo deste trabalho foi verificar o teor de compostos extraíveis no bagaço *in natura*, utilizando água e etanol como solventes.

Métodos: O bagaço *in natura* foi extraído com água, etanol e água seguida de etanol. Então, ambas as amostras foram submetidas à hidrólise ácida e tiveram suas composições químicas determinadas por uma série de análises baseadas em métodos de gravimetria, cromatografia e espectrofotometria.

Resultados: Os bagaços extraídos com água e etanol apresentaram 6,0% e 5,7% de extrativos, respectivamente. A extração seqüencial com água e etanol, entretanto, reduziu a massa seca do material *in natura* em 9,1%. A quantidade de celulose, hemicelulose e lignina nas amostras dos bagaços *in natura* e extraídos foram de, respectivamente, 46,4, 27,2 e 24,8% no bagaço *in natura*, 44,6, 26,2 e 22,0% no bagaço extraído com água, 46,2, 27,8 e 19,3% no bagaço extraído com etanol, e 45,0, 25,8 e 19,1% no bagaço extraído com água seguida de etanol. O conteúdo de cinzas presente no bagaço *in natura* foi de 1,6%.

Conclusão: Concluiu-se que para uma maior extração dos compostos estranhos à "fibra vegetal", a melhor estratégia é utilizar água seguida de etanol.

Agradecimentos: Fapesp e CNPq

DEGRADAÇÃO DE UM COMPLEXO LIGNINA-CARBOIDRATO POR MANGANÊS PEROXIDASE DE CERIPORIOPSIS SUBVERMISPORA E SISTEMAS BIOMIMÉTICOS

<u>Fernando Masarin</u>*, Daniela Silva Costa E André Ferraz Departamento de Biotecnologia, Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, CP 116, 12602-810 Lorena, SP, Brasil E-mail: fernandomestre@debiq.eel.usp.br*

Objetivo: Avaliar a degradação de um complexo lignina-carboidrato (CLC) por sistemas enzimáticos (manganês-peroxidase) ou por sistemas biomiméticos compostos por Fe²⁺, ou Fe³⁺/agentes redutores, ou ainda Mn³⁺. Em todos os casos, os sistemas degradativos tiveram como base a formação inicial de radicais peroxila em moléculas de ácido linoléico.

Métodos: O CLC foi obtido pela solubilização em água de uma lignina preparada por extração de madeira moída (*Eucalyptus grandis*) com dioxano/água (1:1). O tratamento do CLC foi realizado em um meio reacional que continha: 2 mg de CLC; MnP produzida por *C. subvermispora*, ou sistemas biomiméticos (livre de enzimas) e; 1mM de ácido linoléico. O tempo de reação foi de 72 h. As reações foram monitoradas por cromatografia de exclusão para avaliar a distribuição de massa molar do CLC.

Resultados: O CLC apresentou uma composição química de 12,2; 11,3; 5,7 e 44,8 % de glicose, xilose, ácido acético e lignina total, respectivamente. Além disso, o CLC apresentou um teor de 2,6 % de hidroxilas fenólicas. Estudos de distribuição de massa molar do CLC mostraram uma molécula polidispersa com uma massa molar média aparente (Mw) de 18 kDa, sendo que o cromatograma da lignina se sobrepôs ao dos carboidratos totais. Os ensaios com o CLC tratado com MnP/ácido linoléico mostraram uma molécula despolimerizada com Mw de 13,5 kDa. O sistema biomimético composto por Fe³⁺/agentes redutores gerou um CLC com Mw de 13,2 kDa. Os ensaios com íons Mn³⁺ e Fe²⁺ também mostraram que o CLC foi despolimerizado.

Conclusão: Os dados indicam que houve a degradação da lignina sugerindo a quebra das ligações beta-O-4 no CLC. A degradação do CLC pode ser induzida por MnP ou por sistema biomiméticos baseados na ação do Mn³⁺ ou Fe²⁺ agindo inicialmente sobre a molécula de ácido linoléico.

Agradecimentos: Apoio financeiro oferecido pela FAPESP, CNPq e CAPES

EFEITO DA DESLIGNIFICAÇÃO NA HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DA PALHA DE CANA PRÉ-TRATADA POR EXPLOSÃO A VAPOR

¹Fernando M. V. de Oliveira, ²Irapuan O. Pinheiro, ¹Adilson R. Gonçalves, ¹George J. M. Rocha

- 1- Depto. de Biotecnologia Escola de Engenharia de Lorena CEP 12.602-810, Lorena-SP
- 2- Depto. de Ciências Fisiológicas Universidade de Pernambuco CEP 50.100-130, Recife-PE

E-mail: nandomvo@yahoo.com.br

Objetivos: Neste trabalho foi avaliado o efeito de diferentes condições de deslignificação quanto à eficiência da hidrólise enzimática da palha de cana pré-tratada por explosão a vapor.

Materiais e Métodos: A deslignificação foi realizada conforme um planejamento fatorial 2³ em bancada usando reator de aço inoxidável de 200mL sem agitação. As polpas, nas suas formas brutas obtidas foram hidrolisadas enzimaticamente usando uma mistura de tampão citrato e enzimas Celluclast 1.5L e β-glicosidase NS50010 da Novozyme, com 15FPU e 10UI/g de material seco, respectivamente. A hidrólise ocorreu a 40°C por um período de 72 horas. Os licores obtidos da deslignificação foram usados para análise de teor de lignina por espectrofotometria a 280nm. As concentrações de glicose nos hidrolisados foram determinadas por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). Posteriormente serão feitas caracterizações químicas das frações pré-tratada, deslignificadas e dos resíduos obtidos após as hidrólises enzimáticas para estudos de sacarificação.

Resultados: A condição nº 4 do planejamento fatorial: 120°C, 2% NaOH (m/v) e tempo de reação 30 min, resultou em um maior rendimento de deslignificação (56%). Este resultado foi corroborado pelas análises de lignina solúvel (3,3g/L), assim como a concentração de glicose (60,55g/L) presente no hidrolisado enzimático obtido a partir desta polpa celulósica.

Conclusão: O melhor ajuste para o processo de deslignificação e eficiência da hidrólise enzimática foi a condição nº 4 do planejamento fatorial, cujas variáveis foram: 120°C (+), concentração de NaOH 2% (m/v) (+) e tempo de reação de 30 minutos (-).

OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE HIDRÓLISE ÁCIDA DILUÍDA DA CASCA DE ARROZ PARA POSTERIOR FERMENTAÇÃO E PRODUÇÃO DE ETANOL.

<u>Lilian Hickert</u>, Fernanda Pereira, Priscila Souza-Cruz, Marco Ayub. Universidade Federal do Rio Grande Do Sul, rua Bento Gonçalves, 9500, cep: 91501-970, porto alegre, RS – BRASIL.

Objetivo: O objetivo deste trabalho foi a otimização da hidrólise ácida diluída da casca de arroz, para obtenção de um alto teor de açúcares fermentescíveis e baixo teor de compostos tóxicos, levando em consideração diferentes parâmetros.

Metodologia: A hidrólise ácida diluída da casca de arroz foi otimizada com relação às variáveis: temperatura de reação (t), relação sólido-líquido (s/l) e concentração de ácido sulfúrico (C ac.), utilizando-se metodologia de superfície de respostas, mediante planejamento fatorial completo 2³. Para cada condição foram avaliados três tempos de reação 20, 30 e 40 minutos. A tabela abaixo apresenta variáveis reais e codificadas do delineamento fatorial de otimização de hidrólise.

	Codificação das variáveis				eis
Parâmetros	-1,68	-1	0	1	1,68
Temperatura °C	140	148	160	171	180
sólido/líquido (v/v)	8	8	10	11	12
Conc. de H ₂ SO ₄ (mM/g solido seco)	1,0	1,4	2,0	2,5	3,0

Os reatores contendo a mistura reacional (biomassa e ácido sulfúrico) foram mergulhados em banho de silicone nas temperaturas citadas e o conteúdo foi filtrado em papel filtro previamente seco e pesado. Os açúcares presentes na fração líquida e os compostos tóxicos das amostras foram analisados por cromatografia liquida de alta eficiência, utilizando uma coluna HPX 87H (45°C; fase móvel H₂SO₄ 0,01N, fluxo 0,6 mL.min⁻¹ e detector de índice de refração); e coluna C18 (25°C, fase móvel acetonitrila:água, fluxo de 1,1 mL.min⁻¹, detector-UV), respectivamente.

Resultados: Na tabela abaixo estão apresentadas as condições de hidrólise onde foram obtidas as maiores concentrações de açúcares fermentescíveis.

Condição experimental	T	S/L	$[H_2SO_4]$	Gli (g/L)	Xil (g/L)	Ara (g/L)
1	148	8,8	1,4	11	13	2
11	140	10	2	8	14	2
13	160	8	2	13	11	2

(T=Temp; S/L=relação sólido-líquido; [H₂SO₄]=conc. de ácido; Gli=glicose; Xil=xilose; Ara=arabinose)

Conclusão: As condições 1, 11 e 13 apresentaram concentrações totais de açucares fermentescíveis semelhantes 25±1 g/L, sendo que dentre estas a que promoveu a liberação de glicose foi a condição experimental 13.

OPTIMIZATION OF THE DILUTED ACID PRETREATMENT OF SUGARCANE BAGASSE AT HIGH SOLID:LIQUID RATIO FOR ETHANOL PRODUCTION FROM THE HEMICELLULOSIC HYDROLYSATE By Pichia stipitis

Gabriel Jaime Vargas Betancur, <u>Felipe Peres Oliveira</u> and Nei Pereira Jr., Biochemical Engineering Department, Federal University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil

E-mail: nei@eq.ufrj.br

Introduction: Sugarcane bagasse is a lignocellulosic residue produced in high amounts in the sugar-ethanol industrial sector and it represents an important source of fermentable sugars such as xylose from the hemicellulose fraction and glucose from de cellulosic fraction. Even being burnt for energy generation, there is an enormous surplus of sugar cane bagasse, which can be used for the production of 2^{nd} generation ethanol, and thus increasing the global yield per feedstock.

Objectives: This work aims at defining optimal conditions to obtain fermentable hemicellulosic hydrolysate from diluted acid pretreatment using high solid:liquid ratio, as well as its utilization in sequential batch and continuous fermentation by a strain of *Pichia stipitis*.

Materials and Methods: Experiments were carried out in 500mL shaken flasks and in a 2L-bioreactor (BIOSTAT B- B. Braun Biotech International). The concentration of xylose, fufural, HMF, acetic acid and phenolic compounds in the hydrolysates, together with final ethanol and xylitol concentrations were determined. The hydrolysis and fermentation yields were used as response variables, applying a central composite experimental design.

Results: Xylose concentrations in the hydrolysates and final ethanol concentration in fermentation higher than 70 g/L and 20 g/L, respectively, were observed in flask experiments.

Conclusion: The experimental desing was validated in both flask and bioreactor confirming the predicted results pointed out by the experimental design.

ESTUDOS DE CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA, PRÉ-TRATAMENTO E SACARIFICAÇÃO ENZIMÁTICA DO PSEUDOCAULE DE BANANEIRA VISANDO SUA APLICAÇÃO EM BIOPROCESSOS

Vinícius F. N. Silva; George J. M. Rocha e Adilson R. Gonçalves Departamento de Biotecnologia, Escola de Engenharia de Lorena – EEL/USP; Estrada Municipal do Campinho s/n°, 12602-810 – Lorena-SP, Brasil.

E-mail: viniciusfns@debiq.eel.usp.br

Objetivos: O objetivo deste trabalho foi estudar a caracterização química, o pré-tratamento e a sacarificação enzimática do pseudocaule de bananeira a fim de avaliar sua aplicação em bioprocessos.

Materiais e Métodos: O pseudocaule de bananeira "in natura", após a moagem, foi pré-tratado com H_2SO_4 1% (m/v) em um reator piloto de 350L, com agitação de 100rpm, a 120°C, por 10 min, sendo posteriormente deslignificado com NaOH 1% (m/v) a 100°C, por 1h, no mesmo reator piloto. As frações sólidas obtidas em cada etapa de processamento foram submetidas à caracterização química e à sacarificação enzimática, empregando-se as condições: Carga enzimática - Celluclast 1.5L: 15FPU/g lignocelulósico seco, β-glicosidase: 10UI/g lignocelulósico seco, tampão citrato de sódio 0,05 mol.L⁻¹, pH 4,8, shaker sob agitação de 100rpm, temperatura de 45 °C por 72 h e relação sólido:líquido 1:10 (m/v).

Resultados: A conversão enzimática da celulose é mostrada a seguir:

Pseudocaule de bananeira	Condição do processo	Concentração de glicose no hidrolisado (g/L)	Conversão de celulose (%)
"in natura"	-	$33,1 \pm 0,5$	$15,2 \pm 0,7$
Pré-tratado	H ₂ SO ₄ 1% (m/v), 120°C, 10 min	$37,1 \pm 0,2$	$32,3 \pm 0,7$
Polpa bruta	NaOH 1% (m/v), 100°C, 1h	$74,4 \pm 0,1$	$61,0 \pm 0,2$

Conclusão: A melhor conversão enzimática de celulose obtida foi de 61%, com concentração de 74,4 g/L de glicose no hidrolisado, obtido para a polpa bruta de pseudocaule. Estes valores são ainda pequenos para a aplicação deste lignocelulósico em bioprocessos, tais como na obtenção de etanol celulósico.

QUANTIFICATION OF FURFURAL AND HYDROXYMETHYLFURFURAL INHIBITORS PRESENT IN SUGARCANE BAGASSE PRE-TREATED WITH DILUTED ACID

Rosilene S. Rodrigues; <u>Rafaela I. S. Ladeira</u>; Lídia N. Queiroz; Valéria M. Guimarães e Sebastião T. de Resende.

Department of Biochemistry and Molecular Biology, Federal University of Viçosa, Avenida PHRolfs s / n, 36570-000 - Viçosa-MG, Brazil.

Objective: The objective of this study was to quantify the inhibitors furfural and hydroxymethylfurfural in the sugarcane bagasse pre-treated with dilute acid at different concentrations and during different times of treatment.

Methods: The sugarcane bagasse (Saccharum sp.) was obtained in experimental units of the Federal University of Viçosa. Samples of 10 grams of dry biomass were added to Erlenmeyer flasks (250 ml) containing 100 ml of solutions of H₂SO₄ (0.5 %, 1% and 2%). Subsequently, they were placed in the autoclave 121°C for 30, 60 and 90 minutes. Each treatment was performed in duplicate. The hydroxymethylfurfural present in hemicellulosic hydrolysates was quantified second ZAPALLA et al. (2005). The test was performed with 0.4 ml of sample, 1ml of paratoluidine 10% (diluted in 10 ml of acetic acid and 90 ml of isopropanol) and 0.2 ml of barbituric acid 5% (diluted in distilled water). After 5 minutes, the samples were read at 550 nm. The furfural was quantified second NASCIMENTO et al. (1998). The analysis was performed with 0.9 ml of samples, 0.9 ml of 95% ethanol (v / v), 0.002 ml of aniline and 0.4 ml of acid acetic glacial.O test conducted in the dark, under agitation and after 15 minutes was read to 510 nm. Both measurements carried out using standard curves constructed from successive dilutions of standard solution of 1g / L of hydroxymethylfurfural and the standard solution of 0.02% of the furfural. All tests were performed in triplicate.

Results: Results illustrated in the table below:

Concentration	Furfural			Hi droximetilfurfural			
H ₂ SO _{4 (%)}	(mg/g	g dry bior	mass)	(mg/s	g dry bior	mass)	
		Tı	reatment	time (mi	n.)		
Sugarcane b agasse	30	60	90	30	60	90	
0,5%	0,514ªA	0,853 ^{bA}	1,308 ^{cA}		17,44 ^{bA}	23,33°A	
		2,076 ^{bA}			17,44 ^{bA}	23,72°A	
2%	_,	.,	. ,	20,27 ^{aB}		42,68 ^{cB}	

*Same uppercase letters and lowercase letters in the column on the line do not differ significantly (P> 0.05).

Conclusions: With increasing time of treatment for the three concentrations of acid analyzed, there was also an increase in the formation of inhibitors, especially the concentration of 2% sulfuric acid. Also, the lower concentration of inhibitors was found in time 30 minutes and the concentration of 0.5% acid.

CARACTERIZAÇÃO DE ÁCIDOS FENÓLICOS EM HIDROLISADOS ÁCIDOS DE BAGAÇO DE CANA.

<u>Arion Zandoná Filho</u>; Luiz Pereira Ramos; Marcus Vinícius Brandalize Universidade Federal do Paraná, Departamento de Química - Centro Politécnico, Jardim das Américas - Curitiba, PR, Brasil.

E-mail: lramos@quimica.ufpr.br

Objetivos: Desenvolver um método analítico para a caracterização dos ácidos fenólicos presentes nos hidrolisados ácidos de bagaço de cana.

Materiais e Métodos: Os hidrolisados de bagaço de cana envolvidos neste estudo foram derivados de experimentos de auto-hidrólise e de explosão a vapor ácido catalisada. Seis amostras de bagaço pré-tratados a 210°C por 4 min foram analisadas: auto-hidrolisado, seco (8% umidade) e úmido (50% umidade); préimpregnados com 9,5 mg/g dos ácidos fosfórico e sulfúrico; e pré-impregnados com os ácidos fosfórico e sulfúrico (pH 1). Onze (11) compostos fenólicos (ácido caféico, ácido ferúlico, ácido gálico, ácido p-cumárico, ácido o-cumárico, vanilina, ácido vanílico, siringaldeido, ácido siríngico e 4-hidroxibenzaldeído) foram utilizados como padrões de referência. Primeiramente, utilizou-se um espectrofotômetro Varian Cary 100 para gerar os seus respectivos espectros no ultravioleta, com varredura entre 190 a 800 nm em meio aquoso protonado. O procedimento de análise foi incialmente baseado em cromatografia a líquido de alta eficiência (CLAE), que foi realizada em cromatógrafo Shimadzu LC10AD com detectores de índice de refração e de absorção no ultravioleta. A coluna empregada foi uma Aminex HPX-87H (Bio-Rad), eluída a 65°C com 8 mol/L H₂SO₄ com e sem modificação orgânica (0 a 25% de acetonitrila e 1 a 10% de metanol). Os ácidos fenólicos foram extraídos dos hidrolisados ácidos do bagaço de cana por partição líquido-líquido (água e diclorometano), depois secos em fluxo de N₂ e re-dissolvidos na fase móvel para análise cromatográfica.

Resultados: Os resultados espectrofotométricos e cromatográficos indicaram que o melhor comprimento de onda para análise foi de 280 nm. As melhores condições cromatográficas testadas foram de 0,6ml/min com 65°C de temperatura de coluna, sendo que a modificação orgânica responsável pela melhor resolução cromatográfica foi de 10% de acetonitrila. Dentre os 11 compostos estudados, o ácido p-cumário foi o de maior concentração (mg/ml) encontrado nos extratos aquosos dos diferentes tipos de bagaço pré-tratado a vapor.

Conclusão: Os principais componentes existentes no extrato aquoso dos materiais pré-tratados foram analisados e a influência da catálise ácida sobre a liberação de ácidos fenólicos no extrato aquoso foi caracterizada. A presença dos modificadores orgânicos na fase móvel permitiu a redução do tempo de corrida cromatográfica e aumentou a precisão analítica do método.

STUDY OF BLEACHING AND RECYCLING OF XYLANASE ENZYME IN THE PROCESS OF PULP BIOBLEACHING SODA/AQ SUGARCANE STRAW AND CARBOXYMETHYLCELLULOSE OBTAINMENT

Mori, N. R., Gonçalves, A. R., Rocha, G. J. M.

Department of Biotechnology, University of São Paulo; Streat of Campinho, s/ n°, 12600-970 – LORENA – SP, Brazil.

E-mail: naila_mori@yahoo.com.br

Objective: The aim of the present work was to evaluate the action of xylanase in the soda/AQ bleaching process of sugar cane straw pulps, the potential for recycling of this enzyme and to get carboxymethylcellulose.

Methods: Sugar cane straw was chemically cooked by soda/AQ process under the follow conditions: NaOH 12.50 % (m/v), AQ 0.15% (m/v), 160 °C for 60 min. After this process was made the enzymatic pre-bleaching with xylanase (36 UI/kg the pulp) for 2 h. Hereafter, pulps was properly filtered and washed with 10 mL of sodium phosphate buffer pH 7,25 and all the filtered was taken. Then, the filtered enzymatic activity was measured for later reutilization, using the methodology described by BALEY. Then, to evaluate the extension of enzymatic action, the obtained pulps was chemically characterized. Also was determined the lignin residual tenor (kappa number) and viscosity according with TAPPI standard methodology. And for attainment of CMC was used the methodology described by SILVA.

Results: It was found that the pre-bleaching enzyme was very efficient in the removal of lignin (low kappa number), producing pulps with high cellulose content (90.76%). The enzyme also was effective and can be recycled for up to three times. The use of xylanase in cellulosic pulp combined with chemical bleaching allowed the acquisition of carboxymethylcellulose.

Conlcusion: Thus, with the results obtained it was concluded that the use of xylanases for pre-bleaching pulp quality was very effective because the cellulose remained preserved and the removal of lignin was significant. In addition, the reuse of the enzyme is possible which makes the process economically viable. It was proof that the chemical bleaching with H2O2 was performed with great effectiveness by producing high quality pulp with high viscosity and low kappa number allowing production of carboxymethylcellulose.

HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DE PALHA DE ARROZ

Valcenir J. M. Furlan; Juliana B. Moreira; Vanessa W. Schmidt e <u>Jorge A.</u> V. Costa

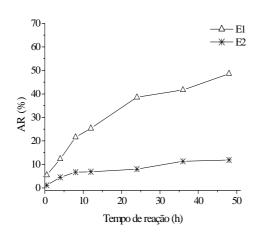
Universidade Federal do Rio Grande, Escola de Química e Alimentos; Rua Eng. Alfredo Huch, 475 - CEP: 96201-900, Rio Grande - RS.

E-mail: jorgealbertovc@terra.com.br

Objetivo: Este trabalho teve como objetivo avaliar o tempo de reação durante a sacarificação enzimática da palha de arroz.

Material e Métodos: Um pré-tratamento na matéria-prima foi necessário, a fim de permitir o contato do substrato (celulose) com o agente catalisador (enzimas), da seguinte forma: solução de NaOH 0,1 M e 10% (p/v) de palha de arroz (granulometria de 0,850 mm) permaneceram por 1 h em autoclave a 121°C seguidas de 24 h de repouso. Após, a fração sólida foi lavada com água destilada, até atingir a neutralidade, filtrada e seca em estufa a 80°C por 30 h. A partir da biomassa deslignificada, realizou-se a hidrólise enzimática, nas seguintes condições: foram utilizadas as enzimas comerciais celulase suplementada com β-glucosidase na proporção (10:1), empregando-se uma solução tampão acetato de sódio 0,2 M (pH 4,8), sob regime de agitação constante a 150 min⁻¹ em shaker, período de reação total 48 h, temperatura 50°C, concentração de substrato 5% (p/v), e enzima 0,35 e 2,2% (p/p). Em cada ensaio, retirou-se alíquota do hidrolisado nos tempos 0,5; 4; 8; 12; 24; 36 e 48 h e adicionou-se NaOH 0,05 M (1:1) para cessar a reação. A seguir o hidrolisado foi centrifugado a 5000 min⁻¹, durante 10 min para posterior determinação de açúcares redutores (AR) no sobrenadante.

Resultados: A figura abaixo representa o conteúdo de AR durante o tempo de reação da sacarificação enzimática da palha de arroz. Concentração de enzima Ensaio 1: 2,2% (p/p), Ensaio 2: 0,35% (p/p).



As celulases apresentam como característica lenta degradação dos polissacarídeos celulósicos e precisam penetrar no polímero para hidrolisá-lo, a fim de atingir o sítio-ativo.

Conclusão: As maiores concentrações de AR formados foram em 48 h de reação, para ambas as concentrações de enzimas empregadas.

PRODUÇÃO ENZIMÁTICA DE XILOOLIGOSSACARÍDEOS E PENTOSES POR HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DE HEMICELULOSE DE LIGNOCELULÓSICO

Brienzo, M., Carvalho, W. e Milagres, A.M.F.

Escola de Engenharia de Lorena, Dept de Biotecnologia – USP. Estrada Municipal do Campinho, s/n Lorena-SP

E-mail: michel@debiq.eel.usp.br

Objetivo: Este trabalho teve como objetivo a otimização da produção de xilooligossacarídeos (XOs) e pentoses pela hidrólise enzimática da hemicelulose do bagaço de cana-de-açúcar por extrato enzimático de *Trichoderma reesei* QM 6A.

Metodologia: A hemicelulose foi obtida com peróxido de hidrogênio (6% m/v) em meio alcalino (pH 11,6). O extrato enzimático foi obtido do cultivo de *T. reesei* em farelo de trigo, em meio sólido (75% umidade). As condições de hidrólise enzimática foram avaliadas com um planejamento fatorial 2² em face centrada, empregando como variáveis a concentração de substrato (0,5-3,5 %) e atividade enzimática de endo-xilanase (40-80 UI/g). A reação foi conduzida em tempos de 3 a 96 h a 50°C, e os produtos da reação foram analisados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) utilizando como padrões xilose, xilobiose, xilotriose, xilotetraose e xilopentaose.

Resultados: A análise estatística indicou que a melhor conversão estava próxima as condições de alta concentração de substrato e enzima. Nesta etapa de otimização verificou-se o efeito significativo das variáveis em estudo, obtendo um modelo de segunda ordem para a produção de XOs. A máxima conversão em XOs foi obtida com 6 h de reação, com predominância de xilobiose. Nesta condição, a conversão em xilose foi cerca de 11%, entretanto com 72 h de reação a conversão nesse produto atingiu 60 %.

Conclusões: A máxima conversão foi de 19.3 ± 1.8 %, obtida com 3.87% de substrato e 87.5 UI/g de atividade xilanase. Esta reação enzimática empregando extrato bruto de *T. reesei* pode ser direcionada em função do produto que se deseja obter, XOs em tempo curto de reação, ou xilose em tempo longo de reação.

Agradecimentos: FAPESP (processo n° 06/03564-9)

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DA PALHA DE CANA DE AÇÚCAR PARA A PRODUÇÃO DE ETANOL DE 2º GERAÇÃO

<u>Patrycia G. de Melo</u>, Kelly C. N. R. Pedro, Gabriel Vargas Betancur, Nei Pereira Jr.*

Laboratório de Desenvolvimento de Bioprocessos, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Centro de Tecnologia, Ilha do Fundão, CEP: 21949900, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

*E-mail: nei@eq.ufrj.br

Objetivo: O objetivo deste trabalho foi avaliar o aproveitamento integral da palha gerada na produção de cana-de-açúcar como matéria-prima potencial para a produção de etanol de segunda geração. A palha constitui-se em um sério problema de ordem ambiental, por ainda ser queimada, apesar das restrições legais. Sua composição lignocelulósica está em torno de 45,1% de celulose, 25,6% de hemicelulose, 12,7% de lignina e 23% de cinzas, umidade dentre outros compostos minoritários.

Métodos: Inicialmente, a fração hemicelulósica foi separada do complexo lignocelulósico, através de um pré-tratamento ácido, que teve suas condições determinadas através de um planejamento experimental central composto, no qual se objetivou determinar as melhores condições para maximizar a concentração de xilose, utilizando a menor concentração de solução de ácido H₂SO₄. Deste processo, foi obtido um resíduo sólido denominado celulignina, que foi submetido a um pré-tratamento alcalino, a deslignificação, a fim de remover a lignina e facilitar o acesso das enzimas na hidrólise enzimática da celulose. Para a fermentação das pentoses obtidas da fração hemicelulósica, foi realizada uma fermentação em batelada simples utilizando uma linhagem de levedura *Pichia stipitis*. Já, para os açúcares provenientes da fração celulósica, o processo utilizado foi o SSF (Simultaneous Saccharification and Fermentation), utilizando uma linhagem de *Saccharomyces cerevisiae* e o consórcio enzimático Multiefect CX da Genecor.

Resultados: As concentrações de xilose, glicose e etanol foram determinados for HPLC e a concentração celular determinada por correlação de massa seca e absorvância a 570nm. A partir de condições preditas na análise estatística foi possível obter uma concentração máxima de xilose no hidrolisado de 47g/L, aplicando-se uma relação sólido:liquido de 1:3 (g:mL) e uma concentração de ácido de 0,95% (v/v).

Conclusão: Foi possível utilizar todas as frações sacarídicas do material lignocelulósico da palha para a produção de etanol, em um modelo de duas correntes. Com a fração hemicelulósica obteve-se uma concentração de etanol de 20g/L de etanol, e a partir da celulose alcançou 51 g/L.

INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO DE SUBSTRATO, CARGA ENZIMÁTICA E GRANULOMETRIA NA HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DO BAGAÇO DE CANA PRÉ-TRATADO TERMICAMENTE.

Rodrigo da Rocha Olivieri de Barros, Raul Alves de Oliveira, Ângela Gava Barreto, Suely Pereira Freitas, Elba P. S. Bon.

Laboratório de Tecnologia Enzimática - Instituto de Química, UFRJ - Universidade Federal do Rio de Janeiro - CT - Bloco A - Lab. 549-3. Av. Athos da Silveira Ramos, 149 ; CEP 21941-909 - Rio de Janeiro, RJ- Brasil

Introdução: Pesquisas para a produção de etanol de segunda geração têm avançado bastante em todo o mundo. Entretanto, para se obter bons rendimentos na etapa de produção de etanol, é de fundamental importância a otimização dos parâmetros da etapa de sacarificação para obter xaropes com alto teor de glicose.

Objetivos: Este trabalho tem o objetivo de avaliar a influência da concentração de biomassa, da carga de enzimas e da granulometria do material utilizado na hidrólise enzimática da biomassa em função do rendimento da sacarificação e na concentração final de glicose.

Materiais e métodos: Os ensaios de hidrólise foram conduzidos em shaker a 50°C e 200 RPM durante 48 horas utilizando bagaço de cana pré-tratado termicamente como substrato. Foram utilizadas 3 concentrações de biomassa: 50 g/L, 75 g/L e 100 g/L. Três cargas de enzimas: 5 FPU/g, 10 FPU/g e 15 FPU/g. E ainda 3 granulometrias distintas. A quantificação da glicose foi determinada pelo analisador bioquímico YSI 2700 e a interpretação dos resultados foi feita com o auxílio do software STATISTICA 7.0 (StatSoft, E.U.A).

Resultados: Pelos resultados temos que a concentração de substrato apresenta grande influência na hidrólise enzimática seguida da carga de enzimas. Entretanto a variação da granulometria não apresentou grandes desvios de rendimento de hidrólise e concentração de glicose, sendo este o parâmetro menos relevante. O melhor resultado foi obtido utilizando 100 g/L de biomassa, 15 FPU/g e ausência de moagem , chegando a atingir 59,91% de rendimento e 29 g/L de glicose.

Conclusões: Embora os melhores resultados tenham sido obtidos para 100 g/L, 15 FPU/g e ausência de moagem, é necessário avaliar o custo da enzima no processo para viabilizá-lo economicamente em níveis industriais; Uma vez que para 100 g/L e 10 FPU/g o processo apresentou em torno de 50% de rendimento e aproximadamente 24 g/L de glicose.

ESTUDO DO EFEITO DO COMPLEXO CELULOLÍTICO SOBRE A HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DO BAGAÇO

Gil Raicher, Luana R Silva, Antonio Bonomi, Rosane A. Piccoli, Maria F.A. Rodrigues, Alfredo E. Maiorano

Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo – Laboratório de Biotecnologia Industrial, Av. Prof. Almeida Prado, 532 – 05508-901 S. Paulo, SP

e-mail: maiorano@ipt.br

Objetivos: O presente trabalho teve por objetivo estudar o efeito da composição do complexo celulolítico formado por celulase, β -glicosidase e xilanase sobre a hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar.

Materiais e Métodos: Foi utilizado bagaço pré-tratado por explosão a vapor. Os ensaios foram realizados 50 °C, agitação de 150 rpm, concentração da suspensão de bagaço fixada em 5% (base seca) em tampão citrato de sódio 50mmol, pH 4,8. Foram testadas diferentes composições do complexo celulolítico variando-se as quantidades das enzimas celulase, βglicosidase e xilanase comercialmente disponíveis. Visando otimizar a composição desse complexo, empregou-se a técnica Planejamento Experimental com um Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR). A produtividade em glicose foi o parâmetro escolhido como resposta da análise da superfície de resposta. O acompanhamento dos ensaios foi feito através da retirada periódica de amostras do meio reacional e submetendo-as a choque térmico para interrupção da reação da enzima. Após medida do pH, a suspensão foi filtrada a vácuo. O bagaço residual retido no filtro foi descartado. No filtrado foram determinadas as concentrações de glicose, celobiose e xilose por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).

Resultados: Nas condições testadas observou-se que a xilanase não apresentou um efeito significativo na hidrólise enzimática do bagaço. Observou-se também o aumento da produtividade em glicose com o aumento da quantidade de celulase e com o aumento da celobiase na mistura enzimática. Assim, pode-se verificar a existência de uma região de máxima produtividade em glicose que se encontra na região de máximas concentrações de celulase e celobiase.

Apoio: CNPq, Evonik

HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DE RESÍDUO DO PROCESSAMENTO DE ALGODÃO

<u>Larissa da Silva</u>; Andrezza M. Pascoalin, Marcos H. L. Silveira, Jürgen Andreaus*

Departamento de Química, Universidade Regional de Blumenau – FURB; Av. Antonio da Veiga, 140, 89012-900 – Blumenau-SC, Brasil. e-mail: jandr@furb.br

Objetivo: O objetivo deste trabalho foi estudar a hidrólise do resíduo lignocellulósico do processamento de algodão (mais especificamente, o pó de filtro) por meio do complexo enzimático produzido com uma mistura de celulase, □-glucosidase e hemicelulase (Kit Biomassa da Novozymes) na proporção de 90,2/4,8/5 (p/p) avaliando a influência da agitação e ação do surfactante Lutensol ON 70 na formação de açúcares fermentáveis em duas diluições enzimáticas.

Método: Realizaram-se ensaios de hidrólise com 6,21 g.L⁻¹ de pó de filtro durante 48 horas, com enzima nas cargas enzimáticas de 88 e 51 UI.g⁻¹ (FPA_{tot} por grama de substrato), em *Shaker* com agitação orbital a 40 e 150 rpm, sem surfactante e com surfactante a 2g.L⁻¹ em pH = 5,0 e 50°C. Em cada ensaio foram tiradas alíquotas nos tempos 45, 90, 150min, 6, 12, 24, 36, 48h para seqüencial determinação de glucose e açúcar redutor solúvel total (AR) presentes no sobrenadante.

Resultados:Com a diminuição da intensidade da agitação orbital observou-se que a presença de surfactante não aumenta as taxas de conversão, ao contrário do que é visto com agitação mais vigorosa. A conversão em AR foi relacionada à quantidade de celulose e hemicelulose presente no substrato e a conversão em glucose foi relacionada à quantidade de celulose apenas. As taxas de conversão obtidas após 48h de hidrólise estão representadas na tabela abaixo:

Carga	Carga Intensidade da Agitação (UI.g-1) (rpm) Surfactante (g.	Surfactante (g.L ⁻	Taxas de conversão (%)		
		1)	Açúcares Redutores Solúveis Totais	Glucose	
88	150	0	$46,56 \pm 0,997$	$62,74 \pm 2,534$	
88	150	2	$47,78 \pm 4,027$	$86,49 \pm 6,283$	
88	40	0	$47,28 \pm 1,266$	$77,36 \pm 1,977$	
88	40	2	$33,95 \pm 1,220$	$56,08 \pm 1,061$	
51	150	0	$29,11 \pm 1,5217$	$35,38 \pm 0,256$	
51	150	2	$35,28 \pm 0,826$	$59,37 \pm 0,664$	
51	40	0	$37,51 \pm 1,019$	$58,08 \pm 0,539$	
51	40	2	$29,59 \pm 8,355$	$68,87 \pm 16,49$	

Conclusão: O surfactante apresentou efeito positivo sobre a formação de produtos de hidrólise na menor carga enzimática e na agitação de maior intensidade. Com agitação de 150 rpm, observou-se para as duas diluições enzimáticas aumento significativo na taxa de conversão em glicose na presença de surfactante.

HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR UTILIZANDO COMPLEXO ENZIMÁTICO LIGNOCELULÓSICO

<u>Giovana F. Dionisio</u>, Flávio C. I. Santana, Andressa C. dos Santos, Flavio F. de Moraes, Gisella M. Zanin

Departamento de Engenharia Química, Universidade Estadual de Maringá; Av. Colombo, 5790, 87020-900 – Maringá – PR.

Email: gisella@deq.uem.br

Objetivo: avaliar a eficiência das enzimas lignocelulósicas na hidrólise do bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado por explosão a vapor.

Métodos: As hidrólises foram conduzidas em erlenmeyrs de 500mL com volume reacional de 100mL, agitação de 150rmp e temperatura de 50°C utilizando 5, 10 e 15% (m/v) de bagaço de cana (massa seca). As enzimas foram combinadas em complexos: Celulase, Celobiase, Xilanase, Hemicelulase, β-Glucanase e Complex, todas fornecidas pela Novozymes. O volume da Celulase foi baseado na quantidade de celulose presente no bagaço, 49%, e na carga enzimática de 10 FPU/g de celulose. Para as demais, os volumes foram tomados de acordo com o estabelecido pela Novozymes. Tendo o meio ainda, tampão citrato de sódio pH 4,8 e água com benzoato de sódio 1g/L. A glicose formada foi quantificada pelo método de GOD-PAP.

Resultados: Dentre as hidrólises realizadas, encontrou-se os melhores resultados para os complexos montados com três enzimas e para o volume de 10% de bagaço em meio (figura 1).

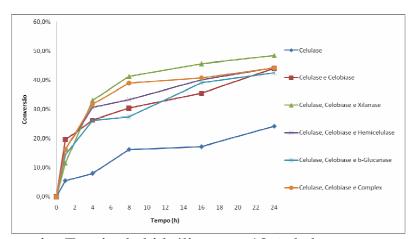


Figura 1 – Ensaio de hidrólise para 10% de bagaço em meio.

Conclusão: De acordo com os ensaios de hidrólise e seus resultados fica claro que a adição de novas enzimas no meio melhora a produção de glicose. Também se pode perceber que o aumento da quantidade de bagaço não aumenta a conversão da celulose em glicose devido à má agitação do meio e a absorção do meio líquido pelo bagaço.

THE USE OF AZURE BACTERIAL CELLULOSE FOR MONITORING THE ACTIVITY OF CELLULOLYTIC COMPLEXES

José Domingos Fontana, Adélia Grzybowski, Marcela Tiboni e Mauricio Passos

LQBB - Biomass Chemo/Biotechnology Laboratory; Department of

Pharmacy; UFPR - Federal University of Paraná, Curitiba (80210-170), PR,

Brazil

E-mail: <u>ifontana@ufpr.br</u>

Objective: Bacterial cellulose was stained with Remazol Brilliant Blue in order to obtain uniformly and covalently dyed cellulose for the purpose of colorimetrically detection and measurement of cellulolytic complexes from microorganisms (endoglucanase + cellobiohydrolases + β -glucosidase).

Methods: A strain of *Gluconoacetobacter xylinus* was isolated from persimmon vinegar. This cellulogenic bacterial was cultured in synthetic media to obtain 0.5-1.0 tick wet cellulosic membranes. The extensively water and 1% SDS-washed membranes were then reacted with 1% Remazol Brilliant Blue in 50 mM NaOH for 24 h. Filter paper (Whatmann n. 1) was submitted to the same dying procedure. Water washed blue membranes as well as blue filter paper were then incubated with the cellulolytic complex from *Trichoderma reesei* and the dyed and non-dyed products of hydrolysis analyzed for reduzing sugars with DNS or at 540 nm for sugars linked to RBB and by TLC and ¹³C-NMR.

Results: The hydrolytic behaviour of several RBB-dyed and non-dyed substrates upon the attack of *T. reesei* cellulolytic complex is shown in the figure below:

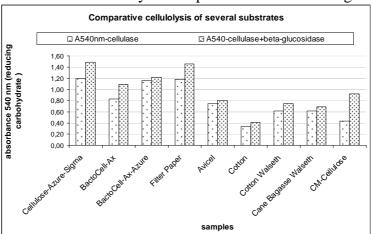


Figure - Comparative assay of cellulolysis of several cellulosic substrates with cellulase or cellulase + β -glucosidase

Conclusion: Azure bacterial cellulose and non-dyed bacterial cellulose are effective substrates for cellulolytic enzymes and the hydrolyses are similar to those obtained with Cellulose-Azure from Sigma-Aldrich and filter paper.

HIDRÓLISE DO BAGAÇO DE CANA COM A ENZIMA CELULASE LIVRE E CELOBIASE IMOBILIZADA EM REATORES BATELADA E FLUIDIZADO

Nathália Castro Leme, João Felipe Bernabé, Fernanda Carla Bombaldi de Souza, Renata Francielle Bombaldi de Souza, Heitor Noda, Hugo Ramón Valério Ribeiro da Silva, Marcelo Fernandes Vieira, Paulo Waldir Tardioli, Flávio Faria de Moraes, Gisella Maria Zanin

Departamento de Engenharia Química, Universidade Estadual de Maringá; Av.Colombo, 5790, 87020-900 – MARINGÁ-PR, BRASIL

E-mail: nathalia_leme@hotmail.com, gisella@deq.uem.br

Objetivos: os objetivos desse trabalho foi imobilizar a enzima celobiase em diferentes suportes, determinar a atividade e a recuperação de atividade e empregar a enzima na hidrólise do bagaço de cana em reator batelada e de leito fluidizado.

Materiais e Métodos: Os materiais utilizados foram as enzimas fornecidas pela Novozymes Celobiase (Novozymes 188 - CB) com atividade média de 1416,83 U/mL e a Celulase (Celluclast 1,5L - CL), com atividade de 51,02 FPU; celobiose como substrato; DEAE-Sepharose e Octil-Agarose para acoplamento reversível, Sílica-Glutaraldeído e Glutaraldeído-Agarose para o irreversível; bagaço de cana pré-tratado por explosão a vapor e sem pré-tratamento. A dosagem de glicose foi realizada pelo método de GOD-PAD. A atividade da enzima CL foi medida em papel de flitro (LAP 006) e a da CB em reator batelada (Calsavara, 1999). As imobilizações foram feitas em condições brandas, sendo que a sílica precisou ser silanizada e ativada. As hidrólises foram realizadas a 50°C tanto em batelada quanto em leito fluidizado, sendo que na primeira verificou-se a importância da adição de CB e na segunda, a capacidade do leito mediante adição de nova bagaço novo a cada 24h.

Resultados e Conclusões: A reação em batelada conduziu a boas taxas de conversão de glicose quando se adicionou CB e mostrou a importância do pré-tratamento do bagaço, que aumenta o contato entre enzima e fibras. O leito fluidizado mostrou-se uma boa alternativa devido aos altos teores de hidrólise da celobiose em glicose.

DIGESTIBILIDADE ENZIMÁTICA DO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR PRÉ-TRATADO COM H₂SO₄ DILUÍDO

<u>Paula J. Esteves</u>; Victor T. O. Santos; Thiago R. Theodoro; Adriane M. F. Milagres e Walter Carvalho

Departamento de Biotecnologia, Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo; Estrada Municipal do Campinho, s/n – LORENA - SP, Brasil, CEP 12.602-810. E-mail: paulaje@debiq.eel.usp.br

Objetivo: O objetivo do estudo é caracterizar um extrato comercial quanto à atividade de enzimas constituintes e utilizá-lo para a digestão enzimática de uma amostra de bagaço de cana-de-açúcar pré-tratada com H_2SO_4 diluído.

Métodos: Foram determinadas as atividades de celulases totais (papel de filtro)¹, endoglucanases (carboximetilcelulose)¹, celobiases (celobiose)¹, celobiohidrolases (avicel)², β-glicosidases (pNPG)², xilanases (xilana de birch)³ e o teor de proteínas (Lowry)¹. As condições que maximizam a digestão do bagaço pré-tratado estão sendo definidas empregando-se a metodologia estatística de planejamento de experimentos e análise de superfícies de resposta. Para isso, as concentrações de substrato, enzimas e surfactante (Tween 20) estão sendo variadas em um planejamento fatorial completo 2³ com face centrada, e o percentual de sacarificação da celulose em glicose está sendo expresso como função destas variáveis independentes.

Resultados: As atividades enzimáticas determinadas no extrato comercial foram: celulases totais (56 FPU/ml), endoglucanases (2643 CMCU/ml), celobiases (93 CBU/ml), celobiohidrolases (38 UI/ml), β-glicosidases (395 UI/ml) e xilanases (16112 nKat/ml). O teor de proteínas foi de 110 mg/ml. As condições que maximizam a digestão enzimática do bagaço prétratado com este extrato enzimático estão sendo definidas atualmente.

Conclusão: De acordo com os dados obtidos até o momento, pode-se afirmar que o extrato comercial apresentou complexo celulásico completo e atividade expressiva de xilanases.

Referências: ¹T. K. Ghose. *Pure & Applied Chemistry*, 59, 257-268, 1987; ²T. M. Wood and M. K. Bath. In: W. A. Wood and S. T. Kellogg. *Methods in Enzymology*, 160, 87-112, 1988; ³M. J. Bailey, P. Biely and K. Poutanen. *Journal of Biotechnology*, 23, 257-270, 1992.

Agradecimentos: Capes, Fapesp e CNPq

ESTUDOS DE ADSORÇÃO DA ENZIMA *DENIMAX* EM BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR.

<u>Andrezza M. Pascoalin</u>; Larissa da Silva, Marcos H. L. Silveira, Jürgen Andreaus* Departamento de Química, Universidade Regional de Blumenau – FURB; Av. Antonio da Veiga, 140, 89012-900 – Blumenau-SC, Brasil.

e-mail: jandr@furb.br

Objetivo: O objetivo deste trabalho foi estudar a adsorção da enzima *Denimax* (celulases da *T. reesei*) em bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado com explosão á vapor variando a carga enzimática e o sistema de agitação.

Método: Realizaram-se ensaios de adsorção de 10 a 120 minutos em equipamento com agitação orbital, (150rpm) e vertical (40 rpm), utilizando a enzima comercial *Denimax* com carga enzimática de 31, 27 e 22 FPU/g substrato, em pH = 5,0 a 50°C. Após o fim de cada ensaio analisaram-se a quantidade de proteína em solução conforme o método Bradford (1976) e as atividades do sobrenadante em carboximeticelulose (CMCase) e papel filtro (FPA) através da determinação dos Açucares Redutores (AR) pelo método DNS. A atividade celulásica total (FPA_{tot}) foi determinada através da análise do sobrenadante em papel filtro (FPA_{tot}), a atividade exoglucanase e β-glicosidade (FPA_{sol}) foi obtida pela análise do sobrenadante do ensaio em papel filtro e a atividade FPA_{insol} pela diferença de FPA_{tot} e FPA_{sol}.

Resultados: Em todos os ensaios observou-se diminuição na quantidade de proteína em solução, e aumento dos ARs formados. Os resultados obtidos são apresentados na tabela abaixo em % referente ao valor no tempo zero.

Tipo de agitação	ação Agitação orbital		Agitação vertical		
Carga enzimática por substrato	31 FPU/g	27 FPU/g	22 FPU/g	31 FPU/g	27 FPU/g
Proteína ads (%)	$65,4 \pm 0,045$	$80,9 \pm 0,010$	$28,8 \pm 0,002$	$40,2 \pm 0,022$	52,0 ± 0,002
FPA _{tot} (%)	$71,1 \pm 0,006$	$65,5 \pm 0,007$	$106,9 \pm 0,008$	$55,0 \pm 0,004$	$50,2 \pm 0,014$
FPA _{sol} (%)	$122,3 \pm 0,008$	$81,7 \pm 0,002$	$102,2 \pm 0,036$	53,0 ±0,003	53,5 <u>+</u> 0,009
FPA _{insol} (%)	$27,4 \pm 0,007$	$43,3 \pm 0,005$	$26,9 \pm 0,022$	$59,1 \pm 0,001$	$47,6 \pm 0,003$
CMCase (%)	91.9 ± 0.002	$110,4 \pm 0,001$	$93,3 \pm 0,0005$	$101,0 \pm 0,0003$	$113,1 \pm 0,004$
AR (μmol/mL)	13.5 ± 0.906	$11,3 \pm 0,155$	$10,4 \pm 0,020$	$14,9 \pm 0,291$	$12,6 \pm 0,541$

Conclusão: A diminuição na quantidade de proteína mostra que ocorreu a adsorção da enzima no substrato. A variação da forma de agitação e da carga enzimática mostraram influência significativa sobre a formação de AR e a adsorção das proteínas e atividades celulásicas. O observado aumento das atividades endoglucanase (CMCase) e da atividade FPA_{sol} poderia ser atribuído à presença de inibidores, que possivelmente adsorvem no substrato. A atividade total apresentou, para todas as diluições, diminuição.

COFFEE PEEL ENZYMATIC DIGESTIBILITY EVALUATION FOR ETHANOL PRODUCTION

Hummel, L., Celis, J., Sepini, C., Mori, N. R., <u>Gonçalves, A. R</u> Department of Biotechnology, University of São Paulo; Estrada do Campinho, s/ n°, 12600-970 – LORENA – SP, Brazil.

E-mail: adilson@debiq.eel.usp.br

Objective: Aiming at to add commercial value to this agricultural residue, this work has for objective to evaluate the enzymatic digestibility of coffee peel for glucose attainment to be used in the fermentative production of ethanol.

Methods: First of all, the in nature coffee peel was extracted with ehtanol 95% (v/v) for removal of iterfering. After that, the extracted peel was submitted to enzymatic hydrolysis using commercial cellulase (Celuclast), complemented with β -glicosidase (Novozym 188). Gotten filtered were analyzed by liquid chromatography of high efficiency for the determination of the glucose concentration. Also the chemical characterization of the peel of coffee before enzymatic hydrolysis was carried through.

Results: Results of chemical characterization are in the following table (in nature coffee peel):

Sample	Hemicellulose (%)	Cellulose (%)	Lignin (%)
1	28,77	46,52	19,74
2	28,81	46,77	19,66
3	28,74	46,55	19,79

After the enzymatic hydrolysis was possible to get conversion of cellulose in 63%, showing that the process was satisfactory for attainment of fermentable sugars.

Conlcusion: The results of enzymatic hydrolysis were satisfactory, since it was possible to get 63% of cellulose conversion, approximately, showing that it is possible to convert the cellulose of the coffee peel into fermentable sugars.

EFEITO DO TEOR DE LIGNINA NA DIGESTIBILIDADE ENZIMÁTICA DE BAGAÇO DE CANA

Germano A. Siqueira, Daniela B. Gurpilhares, André Ferraz, Adriane M. F. Milagres

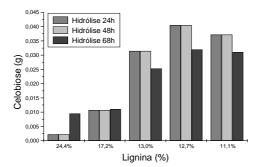
Departamento de Biotecnologia, Escola de Engenharia de Lorena – Universidade de São Paulo

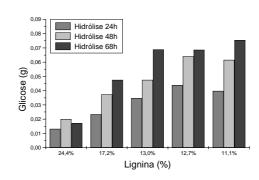
E-mail: germano.siqueira@debiq.eel.usp.br

Objetivo: Este trabalho tem como objetivo avaliar a influência do teor de lignina do bagaço da cana-de-açúcar na produção de açúcares fermentescíveis, utilizados na obtenção de etanol, através de hidrólise enzimática.

Métodos: A deslignificação do bagaço de cana foi alcançada através da solubilização da lignina utilizando clorito de sódio em meio ácido a 75°C em diferentes tempos de reação: 1, 2, 3 e 4 h. Após esta etapa, o bagaço tratado foi submetido a hidrólise enzimática utilizando 2% (p/v) de consistência do material e 20 FPU/g (celulases totais, CELUCLAST, Novozyme) em tampão acetato de sódio 50 mM (pH 4,8) com 0,01% de azida de sódio. Amostras foram retiradas nos tempos de 24, 48 e 68 horas de hidrólise.

Resultados: Os gráficos abaixo apresentam a relação entre os açúcares liberados durante a hidrólise enzimática em função do teor de lignina.





Conclusão: A diminuição no teor de lignina, até 13%, favoreceu a hidrólise enzimática do bagaço. A redução no teor de lignina de 13 para 11% não influenciou a liberação de glicose em tempo longo de reação. Entretanto, até 48 horas de hidrólise esta pequena porcentagem de deslignificação representou um aumento significativo na taxa de conversão do material.

SACCHARIFICATION OF SUGARCANE BAGASSE WITH ENZYME PREPARATIONS FROM *ACROPHIALOPHORA* NAINIANA GROWN ON DIFFERENT CARBON SOURCES.

Marcos H. L. Silveira¹; Martinho Rau.¹; Larissa da Silva¹; Leonora R. S. Moreira, Felix G. Siqueira², Edivaldo F. F. Ximenes² and Jürgen Andreaus¹*.

¹Dept. of Chemistry, Regional University of Blumenau, 89010-971, Blumenau, Brazil. ²Dept. of Cellular Biology, Institute of Biology, University of Brasília, Brasília, Brazil.

E-mail: jandr@furb.br

Objective: The central objective of this work was to study the enzyme profile and the saccharification potential on sugarcane waste of a new cellulase complex from *Acrophialophora nainiana* when grown on different agro-industrial wastes as carbon sources.

Methods: *A. nainiana* was grown on 4 different carbon sources: cellulose, banana stem, cotton and sugarcane bagasse. The enzymatic profile was characterized at 50 °C assaying for xylanase, pectinase, FPA_{Total} , $FPA_{Soluble}$, $FPA_{Insoluble}$ and CMCase activities. Xylanase, pectinase and CMCase activities were carried out by reacting 250 μ L of 1% (w/v) substrate solution of xylan, pectin and 4% (w/v) carboxymethyl cellulose solution, respectively, with 250 μ L of enzyme culture for 30 minutes, and using glucose, xylose and the galacturonic acid as standards. The different filter paper activities (FPA) were analyzed to show the endo/exoglucanase ratio of the enzyme complex, using Whatman filter paper N°1 as substrate (Silveira et al 2009). Hydrolysis experiments were carried out with untreated and pre-treated (acid, steam explosion) sugar cane bagasse at pH 5.0 (acetate buffer 0.1M) and 50°C for 24h.

Results: Pectinase and xylanase activities were predominant in all enzyme preparations, but with banana stem as carbon source the CMCase activity was highest, as shown in *Table 1*.

Table 2. Activity profiles of *A nainiana* enzyme preparations grown on different C-sources

Carbon Source	FPAse _{Total}	FPAse _{Soluble}	FPAse _{Insoluble}	CMCase	Pectinase
Cotton waste	0,0029	0,0025	0,0006	0,0099	0,0399
Sugarcane waste	0,0096	0,0050	0,0046	0,0019	0,0330
Cellulose	0,0024	0,0021	0,0005	0,0011	0,0429
Banana stem	0,0108	0,0104	0,0009	0,0389	0,0176

The best conversion (as glucose equivalent) rate was found for the enzymatic complex grown on banana stem, with $21.93 \pm 0.67\%$ in total soluble reducing sugars.

Conclusion: The best agro-industrial waste used for enzyme production was banana stem, which showed a better activity profile and conversion potential for lignocellulosic sugarcane bagasse into total soluble reducing sugars than the others carbon sources.

References: Silveira, M. H. L., Rau, M., Andreaus, J. *Analytical Biochemistry*, submitted, **2009**.

PRODUÇÃO DE ETANOL A PARTIR DOS HIDROLISADOS ENZIMÁTICOS DE BIOMASSA DE CAPIM ELEFANTE ROXO

Isaías B. Soares; M.Benachour; C.A.M. Abreu

Departamento de Engenharia Química – Universidade Federal de Pernambuco - Av. Prof. Artur de Sá S/N Cidade Universitária - CEP. 50740-521 – RECIFE-PE, Brasil.

E-mail: <u>ibaso2@yahoo.com.br</u>; <u>mbena@ufpe.br</u>; <u>cesar@ufpe.br</u>

Objetivo: O objetivo deste trabalho é avaliação da produção de etanol a partir da fermentação dos hidrolisados obtidos por via enzimática da biomassa de capim elefante roxo (*Pennisetum purpureum Schum.*) com um "coquetel" de celulases.

Método: Amostras de capim elefante roxo com granulometria de 20 mesh foram submetidas a um pré-tratamento com solução 1% de HCl (concentrado), solução 1% de NH₄OH (35% concentrado) e H₂SO₄ (98% concentrado) durante um período total de 3,5 horas. A polpa resultante foi lavada com água a 60°C e procedeu-se a uma hidrólise enzimática utilizando-se exoglucanases/endoglucanases e beta-glicosidases. O pH do sistema foi mantido constante e igual a 4,8 por adição de uma solução tampão ácido acético/acetato de sódio. A hidrólise foi desenvolvida na temperatura de 50°C e agitação de 200 rpm numa mesa agitadora por um período de 120 horas. Em seguida, as amostras foram filtradas e os teores de glicose e xilose na fração líquida determinados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). Utilizando-se leveduras do tipo Saccharomices cerivisae, procedeu-se então a uma fermentação a 35°C dos hidrolisados. Uma duração experimental de 72 horas foi adotada. Após filtração, os líquidos obtidos foram analisados por CLAE a fim de se determinar o teor de etanol contido.

Resultados: Após 120 horas de hidrólise de uma massa de 6,25g de capim elefante, obteve-se uma concentração de glicose próxima a 10g/L e de 2g/L em etanol após fermentação do hidrolisado. Estudos de hidrolise de capim elefante roxo/fermentação sem pré-tratamento estão sendo realizados. Investigações sobre os efeitos das condições de hidrolise e fermentação na avaliação dos teores de glicose e etanol estão sendo efetuadas.

Conclusão: A disponibilidade do capim elefante roxo na região agrícola do Estado de Pernambuco e os resultados preliminares encorajadores obtidos neste trabalho apontam para o uso dessa biomassa como matéria-prima potencial para produção de etanol de segunda geração.

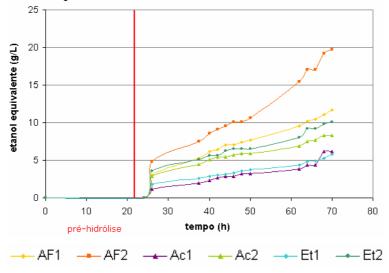
AVALIAÇÃO DA FERMENTABILIDADE DO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR DESLIGNIFICADO POR PROCESSO ORGANOSOLV

Mariana de Oliveira Faber, Thiago Silva de Almeida e Nei Pereira Jr. Departamento de Engenharia Bioquímica, Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro. CEP: 21945-900 – Rio de Janeiro – RJ - Brasil. Telefone: (21) 2562-7628 – Fax: (21) 2562-7616 – E-mail: nei@eq.ufrj.br

Objetivo: Avaliar a fermentabilidade de bagaço de cana-de-açúcar deslignificado por processo organosolv.

Métodos: O bagaço hidrolisado (hidrólise ácida) foi submetido à ação de diferentes sitemas solventes a fim de remover a lignina residual. Foram empregadas diferentes relações sólido:líquido (1:20, 1:7 e 1:20). Utilizaram-se as misturas extratoras: ácido acético/ácido fórmico/água (60/30/10), acetona/água (50/50) e etanol/água (60/40), mantidas em ebulição com reciclo. O licor residual foi reutilizado em uma nova deslignificação mantendo-se constantes as relações sólido:líquido. Após a deslignificação procedeu-se à sacarificação e fermentação simultâneas (SSF) em frascos utilizando-se o preparado enzimático comercial Multifect®, a uma concentração de 25 FPU/g de celulignina e relação sólido:líquido de 1:10 (g:ml), na presença de *Saccharomyces cerevisiae*. Os resultados foram expressos em termos de etanol equivalente.

Resultados: Na figura a seguir, estão mostrados os perfis de produção de etanol ao longo do processo SSF para o hidrolizado tratado com diferentes solventes.



A maior produção de etanol após 70h de processo foi de 19,7 g/L, utilizando-se solução contendo ácido acético e ácido fórmico para deslignificação.

Conclusão: É-nos possível inferir que o bagaço de cana-de-açúcar deslignificado por processo organosolv apresenta elevado potencial para otimização da sendo o sistema mais promissor a mistura ácido acético/ácido fórmico/água (60/30/10).

HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DA CASCA DE JABUTICABA (Myrciaria cauliflora) E POSTERIOR PRODUÇÃO DE ETANOL CELULÓSICO

Roberto N. Silva¹*, Eduardo R. Asquieri², Valdirene N. Monteiro³

¹Laboratório de Enzimologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás, 74.001-940, Goiânia, Go, Brazil.

²Laboratório de Tecnologia e Bioquímica de Alimentos, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Goiás, 74.001-940, Goiânia, Go, Brazil. ³Laboratório de Bioquímica de Microrganismos, Unidade Universitária de Ciências Exatas e Tecnológicas da Universidade Estadual de Goiás-UnUCET/ UEG. BR 153, Km 98 Campus Henrique Santillo. CEP: 75000-000. Anápolis-GO, Brazil.

E-mail: rsilva@icb.ufg.br

Objetivos: Este trabalho teve como objetivo a hidrólise enzimática da casca de jabuticaba, utilizando celulases e β-glicosidases produzidas por *Trichoderma reesei* e *Aspergillus niger*, para posterior produção de etanol por fermentação.

Métodos: Foram utilizadas celulases e beta-glicosidases produzidas pelos fungos *T. reesei* Rut - C 30 e *A. niger* em co-cultivo por fermentação submersa, tendo a casca da jabuticaba como fonte de carbono. A hidrólise da casca de jabuticaba foi realizada utilizando-se 30 g de casca previamente tratada com ácido sulfúrico e peróxido de hidrogênio a 1% e incubadas com 100 FPU de enzima/g de substrato com um volume de reação de 400 mL pH 4,8 a 50 °C por 48hs com agitação 100 rpm. Após a hidrólise, o hidrolisado foi purificado por filtração em carvão ativo a 65 °C e fermentado por células de *Saccharomyces cerevisiae* 20% v/v, previamente obtidas, por 48 horas a 30 °C.

Resultados: O rendimento de conversão de biomassa em glicose foi de 44,29%. A perda de glicose com o processo de filtração em carvão ativo foi de aproximadamente 5%. O rendimento da fermentação calculada com base na formação de CO_2 foi de aproximadamente 93%. A eficiência (Rendimento Gay-Lussac) com base na relação etanol/glicose foi de 0,442.

Conclusão: Os resultados mostram a viabilidade técnica no aproveitamento da casca de jabuticaba para a produção de etanol.

Suporte Financeiro: CNPq/FUNAPE/UFG

USE OF PAPER MILL RESIDUES FOR THE SECOND GENERATION ETHANOL PRODUCTION BY SIMULTANEOUS SACCHARIFICATION FERMENTATION PROCESS

Eleandro M. Walverde; Edelvio de B. Gomes; Luiz A. F. S. Schilittler; Luiz C. S. Carlos; Daiana da S. Neves; Nei Pereira Jr.

Laboratories of Bioprocess Development – Department of Biochemical Engineering - School of Chemistry - Federal University of Rio de Janeiro - Center of Technology - Rio de Janeiro - R.J. - Brazil - CEP 21949-900 E-mail: edelviogomes@gmail.com

Objective: The aim of this work was to investigate the potential of ethanol production from the residues generated in the paper mill process.

Methods: Residual wood chips from the paper mill production process were used as a raw material to produce ethanol. Wood chips were first milled and then pretreated with sulfuric acid (1,5 % vv) at 121 °C, during 40 minutes. The solid fraction was separated and a set of three assays of delignification were carried out using: 1) cooking liquor; 2) NaOH 4% and 3) "white liquor". The enzyme concentration (Multifact - Novozymes A/S) was adjusted to 30FPU/g of biomass. Enzymatic hydrolysis was executed previously by 12 hours, with the temperature of 50 °C and 200 rpm of agitation. Afterwards, the system was inoculated with the yeast strain of *Saccharomyces cerevisiae* to starts the ethanol production by Simultaneous Saccharification and Fermentation process (SSF).

Results: The highest production of ethanol was observed to the biomass treated with "white liquor", which is recognized by the high concentration of sodium hydroxide (about 126.8g/L in this work). Results are showed in the following table:

Treatment	Glucose (g/L)	Ethanol (g/L)	
Cooking liquor	9.3	0.86	
"White liquor"	19.5	15.5	
NaOH (4%)	11.8	4.5	

Conclusions: The results showed the feasibility of utilization of the rejected wood chips as a raw material to produce ethanol, as well as, the reuse of the alkaline "white liquor".

INTERESTERIFICAÇÃO ENZIMÁTICA DA GORDURA DE LEITE COM ÓLEO DE SOJA USANDO LIPASE DE Rhizopus oryzae IMOBILIZADA EM SiO₂-PVA: AVALIAÇÃO DAS CONDIÇÕES REACIONAIS

<u>Ariela V. de Paula</u>; Gisele F. M. Nunes; Júlio C. dos Santos; Heizir F. de Castro

Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo; Estrada Municipal do Campinho s/ n°, 12602-810 – LORENA-SP, Brasil

E-mail: ariela@dequi.eel.usp.br

Objetivo: Avaliar a influência da temperatura e do teor de gordura no meio reacional na interesterificação enzimática da gordura de leite com óleo de soja visando à obtenção de produto enriquecido com ácidos graxos essenciais.

Materiais e Métodos: Foi utilizada lipase microbiana de *Rhizopus oryzae* (Lipase L036P; Biocatalysts) imobilizada por ligação covalente em matriz híbrida polissiloxano-álcool polivinílico (SiO₂-PVA), previamente ativada com metaperiodato de sódio. As reações foram realizadas em reator cilíndrico de vidro encamisado contendo 40 g de meio reacional (gordura de leite e óleo de soja) e 20% em massa de biocatalisador, sob atmosfera inerte (N₂). Os experimentos foram conduzidos segundo uma matriz de planejamento fatorial completo 2², considerando como variáveis resposta o grau de interesterificação, o perfil em triacilgliceróis e a área de relaxação. Todas as reações foram conduzidas por um período máximo de 48 h.

Resultados: A análise estatística dos resultados revelou uma influência significativa da variável teor de gordura de leite sobre todas as respostas analisadas. Os valores mais elevados de grau de interesterificação (acima de 1,7) foram obtidos empregando-se a mistura reacional contendo 50% de gordura de leite. Esta composição também resultou nos menores valores de área de relaxação (abaixo de 350 g.s), correspondendo assim a produtos com maior espalhabilidade.

Conclusão: Tendo como base os resultados obtidos e a área de relaxação de uma margarina comercial as condições adequadas, para conduzir o processo, foram estabelecidas na temperatura de 45°C e o teor de gordura de 60% Os resultados obtidos mostraram ainda o potencial do sistema biocatalítico na obtenção de um produto interesterificado com melhores propriedades de espalhabilidade sob temperatura de refrigeração em comparação à gordura do leite pura.

Agradecimentos: FAPESP, CNPq e CAPES.

UTILIZAÇÃO DA ENZIMA ALCALASE NA HIDRÓLISE DO FARELO DE SOJA

Raquel Ströher; Raissa Aparecida da Silveira Rossi; Ivan Lara; Gisella Maria Zanin; Nehemias Curvelo Pereira

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Engenharia Química; Av. Colombo, 5790, Bloco D90, CEP 87020-900, MARINGÁ - PR, Brasil. E-mail: raquel_stroher@hotmail.com

Objetivo: O objetivo deste trabalho foi a solubilização da proteína de farelo de soja via hidrólise enzimática para, posteriormente, estudar a viabilidade de incorporar o hidrolisado em sucos de frutas.

Métodos: A solubilização enzimática é realizada em pH da suspensão próximo de 6,5, sob temperatura de 60°C e agitação de 100 rpm em incubadora. A enzima *Alcalase* foi adicionada numa concentração de 1% (massa/massa) nas dispersões com 10g de farelo de soja e 100 mL de água destilada. Após 3 horas de reação, a enzima foi inativada pela imersão em banho de gelo para ser finalizada a atividade catalítica enzimática. A determinação da quantidade de proteína solubilizada foi feita pelo Método de Lowry com vistas à determinação do grau de hidrólise. Para cada ensaio foi feita uma reação controle em que não havia adição de enzima e assim, quantificarmos a proteína hidrolisada pela água.

Resultados: A quantidade de proteína solubilizada pela *Alcalase* nas dispersões foi de 28,16 mg/mL sendo que para sua reação controle, foi de 7,06 mg/mL.

Conclusão: Os resultados preliminares indicam a viabilidade da utilização da *Alcalase* na solubilização enzimática, tendo em vista o aumento do grau de hidrólise pela utilização desta enzima.

IMOBILIZAÇÃO DE FUNGOS PRODUTORES DE LIPASE INTRACELULAR EM ESPONJAS DE POLIURETANO

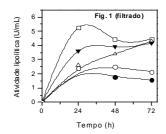
<u>Grazielle S. Silva*</u>; Júlio C. Santos; Heizir F. de Castro Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo; Caixa Postal 116, 12602-810 – LORENA-SP, Brasil.

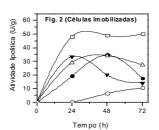
*e-mail: grazielle@debiq.eel.usp.br

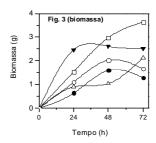
Objetivo: Testar a habilidade de adesão de diferentes linhagens de fungos produtores de lipase intracelular em cubos de esponjas de poliuretano, visando posterior utilização das células imobilizadas em reações de transesterificação de óleos vegetais.

Materiais e Métodos: As linhagens dos fungos filamentosos: *Rhizopus oryzae* (3231 e 4692), *Mucor circinelloides* (4182 e 4140) e *Penicillium citrinum* (4216) adquiridas da Micoteca URM do Departamento de Micologia (CCB/UFPE) foram cultivadas juntamente com os cubos de poliuretano em meio líquido sintético, tendo azeite de oliva como fonte de carbono (170 rpm, 30 °C por 72h). Amostras foram retiradas em intervalos de 24 h e os derivados imobilizados foram separados do caldo fermentativo por meio de filtração à vácuo e lavagem com água e acetona. As atividades lipolíticas dos filtrados (Fig. 1) e derivados imobilizados (Fig. 2) foram determinadas pelo método da hidrólise do azeite de oliva. A biomassa suportada na esponja foi avaliada mediante a análise da diferença entre a massa seca do suporte antes e após a imobilização dos fungos (Fig. 3).

Resultados: Todos os fungos mostraram boa aderência às esponjas de poliuretano. A atividade lipolítica mais elevada foi obtida pelo fungo *M. circinelloides* 4182 (49,9 U/g) em 72 h de cultivo, seguida pelos fungos *M. circinelloides* 4140 (34,6 U/g) e *R. oryzae* 3231 (34,2 U/g), ambos em 48 h de cultivo. Os menores valores de atividade lipolítica foram obtidos no cultivo dos fungos *R. oryzae* 4692 (20,3 U/g) e *P. citrinum* 4216 (10,5 U/g) em 48 h e 72 h de cultivo, respectivamente.







Legenda: *M. circinelloides* 4182 (\square); *R. oryzae* 3231 (Δ); *R. oryzae* 4692 (∇); *M. circinelloides* 4140 (\bullet) e *P. citrinum* 4216 (\square).

Conclusão: Estudos estão em fase de desenvolvimento visando testar a atividade catalítica desses sistemas imobilizados em reações de síntese.

Agradecimentos: FAPESP e CNPq.

BIODIESEL SYNTHESIS FROM VEGETABLE OILS CATALYZED BY MICROBIAL LIPASES IMMOBILIZED ON GLYOXYL-TOYOPEARL BY MULTIPOINT ATTACHMENT

Adriano A. Mendes^{1*}, Patrícia C. M. Da Rós¹, Heizir F. de Castro¹, Raquel de L. C. Giordano²

Objective: To assess the performance of microbial lipases from *Thermomyces lanuginosus* (TLL) and *Pseudomonas fluorescens* (PFL) immobilized on glyoxyl-toyopearl by multipoint attachment to catalyze the ethanolysis reaction of babassu and palm oils.

Materials and Methods: Immobilization of the lipases were carried out at fixed protein loading 5 mg of protein.g⁻¹ of support previously activated with glycidol (GLY) and epichlorohydrin (EPI) for 24 h at pH 10.05. Biodiesel synthesis was performed at fixed molar ratio of babassu and palm oils to alcohol 1:9 and 1:18, respectively, at 45°C. The mixtures were incubated with immobilized lipases at proportions of 2 mg of immobilized enzyme per gram of vegetable oil.

Results: Conversion of palm oil into biodiesel was faster than babassu oil. Both lipases showed high affinity for fatty acids containing in palm oil. No significance influence of the lipase source or activation agent was found on the reaction rate. The viscosity values for the biodiesel samples (3.40-4.30 cSt) are in accordance with specifications recommended by the Brazilian Petroleum Agency (ANP) to be used as biofuel.

Lipase	Activation	Vegetable oils			
	Agent	Babassu		Palm	
		Conversion		Conver	rsion
		(%)		(%))
		24 h	48 h	24 h	48 h
TLL	GLY	63.6	89.0	85.2	93.5
TLL	EPI	81.5	91.9	90.7	100
PFL	GLY	84.7	93.2	100	100
PFL	EPI	78.0	94.9	93.1	100

Acknowledgment: FAPESP and CNPq for financial support and Novozymes.

¹ Engineering School of Lorena, University of São Paulo, PO Box 116, 12602-810-Lorena-SP, Brazil

²-Federal University of São Carlos, PO Box 676, 13565-905, São Carlos-SP, Brazil

^{*}e-mail: <u>adriano.a.mendes@dequi.eel.usp.br</u>

SÍNTESE DE MONOLAURINA VIA ESTERIFICAÇÃO ENZIMÁTICA CONDUZIDA SOB IRRADIAÇÃO DE MICRO-ONDAS

Daniel E. Kashiwagi, *Aline S. Simões; Larissa Freitas; Heizir F. de Castro Escola de Engenharia de Lorena; Universidade de São Paulo Caixa Postal 116, 12602-810-LORENA-SP-Brasil.

E-mail: *alinesimoes@dequi.eel.usp.br

Objetivo: Comparar o desempenho da atuação das lipases de *Mucor miehei* (Lipozyme IM20) e *Penicillium camembertii* (Lipase G) imobilizada em SiO₂-PVA na síntese da monolaurina sob irradiação de micro-ondas, empregando materiais de partida em diferentes razões molares.

Métodos: As sínteses foram realizadas em reatores esféricos a 50°C sob irradiação de micro-ondas, contendo quantidades adequadas de glicerol e ácido láurico (em diferentes razões molares: 8:1; 5:1 e 3:1) e 5% (m/m) das lipases imobilizadas (Lipozyme IM²⁰ ou lipase G imobilizada em SiO₂-PVA). O perfil dos produtos formados foi quantificado por CG.

Resultados: Para ambas as preparações de lipase, a razão molar entre os materiais de partida não interferiu de forma marcante a composição dos produtos formados, bem como no teor residual do ácido láurico (Fig. 1). Entretanto, a irradiação de micro-ondas interferiu de forma distinta as lipases testadas. Para Lipozyme, verifica-se uma redução da seletividade para formação de monolaurina e um aumento da formação de mono e dilaurina (62,3%), refletindo num consumo de 70% do ácido láurico. No entanto, para a lipase G a seletividade para monolaurina foi aumentada (36,3%), sendo contatado traços de dilaurina (7%) e menor consumo de ácido láurico (42%).

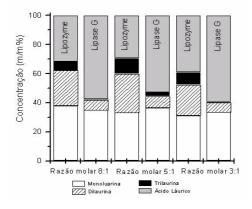


Figura 1. Perfil de formação de mono, di e trilaurina e concentração de ácido láurico nas esterificações do glicerol com ácido láurico em diferentes condições reacionais, sob irradiação de micro-ondas.

Conclusão: Campos magnéticos interferem não apenas na velocidade das reações, como também a enantiosseletividade das enzimas, sendo esse efeito altamente positivo para atuação da Lipase G.

Agradecimentos: CNPq e FAPESP

SÍNTESE DE MONOGLICERÍDEOS VIA GLICERÓLISE DO ÓLEO DE BABAÇU CATALISADA PELA LIPASE DE *Pseudomonas cepacia* SOB IRRADIAÇÃO DE MICRO-ONDAS

Matheus B. A. Castro, André L. Silva, Larissa Freitas, Heizir F. de Castro* Escola de Engenharia de Lorena–Universidade de São Paulo Caixa Postal 116, 12602-810 – LORENA-SP, Brasil.

*E-mail: heizir@dequi.eel.usp.br

Objetivo: Estudar a influência dos campos magnéticos de alta frequência na síntese de monoglicerídeos (MAG) e diglicerídeos (DAG) via glicerólise, utilizando lipase de *Pseudomonas cepacia* (PS) imobilizada em SiO₂-PVA.

Métodos: As sínteses foram conduzidas em reator cilíndrico contendo glicerol e óleo de babaçu (razão molar = 15), dotado de agitação mecânica, sob atmosfera inerte (N_2) . A mistura foi incubada com lipase PS imobilizada em SiO_2 -PVA na proporção de 10% (m/m) em relação à massa total dos reagentes envolvidos no meio reacional, e mantida sob irradiação de micro-ondas ($\cong 15$ W) a 50°C (reator de micro-ondas CEM-Discover) por 6h. Um experimento controle (aquecimento convencional) foi realizado nas mesmas condições operacionais. Os produtos foram quantificados por CG.

Resultados: No experimento controle, conversões mássicas de 52,85% de MAGs e 87,76% de MAG+DAG foram obtidas em 6h. Sob irradiação de micro-ondas, foi constatada a redução da concentração de MAG para 46,35% e um aumento na concentração de MAG+DAG para 96,31%. Esses resultados foram atribuídos ao aumento da entropia das moléculas polares do glicerol e da aceleração da oscilação dessas moléculas quando expostas à irradiação de micro-ondas, favorecendo o aumento das colisões entre os grupos hidroxilas e a lipase levando a um acréscimo da velocidade global de reação (MAG+DAG) de 286 mg produto/g meio.h para 389 mg produto/g meio.h, o que não significou um aumento na velocidade de formação de monoglicerídeos.

Conclusão: O aumento da oscilação das moléculas pode aumentar a probabilidade de ligação entre substrato e o sítio ativo da lipase, debilitando ao mesmo tempo a força de ligação entre eles. Desta forma, alterações no perfil de formação dos produtos durante a reação podem ocorrer de maneira randômica. Estes resultados indicam que a irradiação de micro-ondas não foi aplicável para síntese de MAGs por glicerólise. Uma estratégia recomendada para solucionar limitações desta natureza é a proteção das hidroxilas presentes na molécula do glicerol, deixando livre apenas um radical OH, para favorecer a formação exclusiva dos monoglicerídeos.

Agradecimentos: FAPESP e CNPq.

SYNTHESIS OF MONOOLEYL XYLITOL BY CHEMOENZYMATIC ESTERIFICATION USING NON CONVENTIONAL HEATING SYSTEMS

P. C. M. Da Rós, W. R. R. Fidalgo, J. C. Barboza, H. F. de Castro* Engineering School of Lorena, University of São Paulo PO Box 116, 12602-810, LORENA, SP-Brazil.

E-mail: *heizir@dequi.eel.usp.br

Objective: To assess the effect of non conventional heating systems (microwave and ultrasound irradiations) on the synthesis of monooleyl xylitol by esterification of protected xylitol using *Penicillium camembertii* lipase immobilized on epoxy SiO₂-PVA.

Materials and Methods: All reactions were performed with 15mL of dried *t*-BuOH containing protected xylitol (50 mM), oleic acid (200 mM) and 0.5 g immobilized derivative at 50°C. Three heating system were used a) water bath; b) ultrasound irradiations (ultrasonic cleaning bath-Model 5210) and c) microwave irradiations (reactor Discover, Cem Corporation). The conversion to ester was calculated from the disappearance of the oleic acid from the reaction medium.

Results: Similar behavior was attained for both non conventional heating systems, with a slight higher yield for the reaction carried out in the microwave reactor. Decreasing the reaction time was the most important effect and yields higher than 60% were attained in only 7 h reaction whereas under conventional heating similar yield was achieved at 24 h (Table 1).

Table 1- Values for molar conversion (X%) and productivity (P) in the synthesis of monoelyl xylitol ester catalyzed by lipase G immobilized on epoxy SiO₂-PVA using different heating systems

Heating system	Molar conversion	Reaction time	Productivity
	(%)	(h)	(mmol h ⁻¹)
Ultrasound	60.30	7	4.31
Microwave	63.10	7	4.52
Conventional	39.82	9	2.21
	77.47	24	1.61

Conclusions: Both non conventional heating systems are comparable either in terms of yield or productivity, although additional advantages of performing the reaction in a microwave reactor were also found in relation to the easy reaction temperature control and lower mechanical damages caused to the immobilized derivative.

Acknowledgments: FAPESP and CNPq.

BIOTRANSFORMAÇÃO BACTERIANA DE GLICEROL

Miguel A. A. Rodríguez*, Aline Gozzi&, Benício A. de Abreu Filho&, Flávio F. de Moraes&, Gisella M. Zanin& e Evandro Bona*

Departamento de Engenharia Química, Universidade Estadual de Maringá; Av. Colombo 5790, CEP 87020-900 – MARINGÁ/PR – Brasil.

*Coordenação de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná; BR 369 – Km meio, CEP 87301-006 – CAMPO MOURÃO/PR – Brasil. Email: flavio@deq.uem.br

Objetivos: Avaliar o potencial da *Klebsiella planticola* na transformação do glicerol em produtos de maior valor agregado.

Métodos: Foi utilizado um delineamento experimental com planejamento fatorial 2⁴, sendo os que fatores avaliados foram: fonte de nitrogênio, concentração de triptona, concentração de glicerol e concentração de NaCl. O crescimento bacteriano foi acompanhado pela alteração da densidade ótica determinada por espectrofotômetria UV/VIS (600 nm). Os perfis de fermentação foram estudados através de análise HPLC em um sistema Gilson com detetor UV/VIS (190 nm) com o uso de uma coluna Aminex HPX-87C 300 X 7,8 mm (BIO RAD), temperatura de 42 °C e vazão de 0,40 mL/min. Para isolamento da cepa selvagem: amostras de solo local foram misturadas, homogeneizadas e adicionadas à água destilada e depois filtradas. O filtrado foi utilizado como inóculo dos diversos de meios utilizados para a bactéria padrão. Foram retiradas alíquotas dos meios que apresentaram maior crescimento microbiano (turbidez) e semeadas em placas de ágar nutriente. As placas foram cultivadas por 24 horas a 37 °C. O procedimento anterior foi repetido até a obtenção de colônias uniformes, as quais foram avaliadas em termos de pureza (análise a fresco), morfologia e coloração de Gram. Além disso, foram realizados cinco (05) testes bioquímicos de identificação: prova do triplo açúcar-ferro (TSI), caldo nitrato, prova de uréia (Christensen), prova de oxidase e mobilidade.

Resultados: A cepa de *K. planticola* apresentou melhores condições de crescimento sob condições de redox menos severas. Os dados relativos a esta cepa indicam que a melhor fonte de nitrogênio é a uréia, que a bactéria cresce melhor quando a salinidade e a concentração de glicerol são menores. Quando as mesmas condições foram utilizadas para a cepa isolada de amostras de terra, a concentração de gás formado durante as primeiras vinte e quatro horas foi muito maior do que aquela observada durante o processo fermentativo conduzido com a cepa padrão, independente da concentração de glicerol. Os principais produtos da fermentação são: formato, dióxido de carbono, hidrogênio, etanol e lactato.

Conclusão: Os produtos obtidos, em especial o hidrogênio e o etanol, indicam um possível aproveitamento das bactérias testadas na obtenção de produtos de maior valor agregado, sendo que a cepa selvagem possui um grande potencial como degradadora de glicerol.

INTERESTERIFICAÇÃO DA GORDURA DE LEITE COM ÓLEO DE CANOLA EMPREGANDO LIPASE DE Rhizopus oryzae IMOBILIZADA EM SiO₂-PVA POR ADSORÇÃO FÍSICA E LIGAÇÃO COVALENTE

Gisele F. M. Nunes; Ariela V. Paula; Heizir F. de Castro; Júlio C. Santos Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo; Estrada Municipal do Campinho s/ n°, 12602-810 – LORENA-SP, Brasil.

E-mail: gisele@dequi.eel.usp.br

Objetivo: O objetivo deste trabalho foi selecionar o procedimento de imobilização mais efetivo da lipase de Rhizopus oryzae em SiO2-PVA para mediar a reação de interesterificação da gordura de leite com óleo de canola, por meio da comparação do potencial catalítico da lipase imobilizada por adsorção física no suporte não ativado e por ligação covalente no suporte ativado com metaperiodato de sódio.

Métodos: As reações foram realizadas em regime de batelada, em reatores cilíndricos encamisados, carregados com 40 g de meio numa proporção mássica de 65% de gordura de leite e 35% de óleo de canola. As misturas foram incubadas com os derivados imobilizados na proporção de 500 U/g de óleo. As reações foram conduzidas por 48 h, com agitação magnética em atmosfera inerte (N2), ao abrigo da luz a 45°C. O progresso da reação foi acompanhado pela mudança do perfil em triacilgliceróis (CG) e da consistência dos produtos interesterificados (texturômetro).

Resultados: Com relação à modificação do perfil de triacilgliceróis da mistura reacional não foi constatada diferenças significativas em função do tipo de derivado imobilizado utilizado, sendo quantificados graus de interesterificação da ordem de 1,67 e 1,74, para a lipase imobilizada por adsorção física e por ligação covalente, respectivamente. Entretanto, a atuação do derivado imobilizado obtido por adsorção física foi mais efetiva na redução da consistência da mistura, alcançado valores da ordem de 84%, enquanto o derivado preparado por ligação covalente reduziu apenas 76%.

Conclusão: Os resultados foram bem promissores, sendo selecionado como procedimento de imobilização mais efetivo a adsorção física, pois além de ser uma técnica de fácil execução, não envolve o uso de substâncias tóxicas, condição requerida para obtenção de produtos alimentícios, como no caso do presente trabalho.

Agradecimentos: CAPES, CNPq, FAPESP.

ESTRATÉGIAS PARA SUPERAR LIMITAÇÕES OPERACIONAIS DO PROCESSO DE OBTENÇÃO DE BIODIESEL EM REGIME CONTÍNUO

Gisanara Dors¹, Aline S. Simões², Heizir F. de Castro², Agenor Furigo Jr.¹ Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos - UFSC, CP 476, 88040-900, Florianópolis, SC. E-mail: gisadors@yahoo.com.br ² Escola de Engenharia de Lorena – USP, CP 116, 12602-810, Lorena, SP.

Objetivos: Nos processos contínuos de produção de biodiesel são constatadas algumas limitações operacionais, como: separação de fases devido a dificuldade de miscibilidade entre o óleo e o álcool, entupimentos e obtenção de baixos rendimentos em ésteres comparados a processos em regime de batelada. Neste trabalho foram avaliadas como estratégias para contornar esses problemas o uso de emulsificante (Triton X-100) e solvente (terc-butanol) utilizando como modelo de estudo a síntese enzimática de biodiesel a partir do óleo de palma pela rota etílica, em reator de leito fixo. Métodos: Todos os experimentos foram efetuados com a lipase de Pseudomonas fluorescens imobilizada em epóxi-SiO₂-PVA a 50°C. O substrato foi preparado numa razão molar etanol e óleo de palma de 6:1 (controle) e contendo quando apropriado 10% (m/v) de Triton X-100 (estratégia A) ou 30% (m/m) de terc-butanol (estratégia B). O substrato foi bombeado através do reator de leito fixo (DI = 15 mm, altura = 55 mm e volume = 10 mL) numa vazão volumétrica de 0,02 mL.min⁻¹ (τ = 6 h). O reator encamisado consistia de uma coluna empacotada contendo 6,7 g do derivado imobilizado (1500 U/g). O monitoramento do processo foi efetuado por quantificação dos ésteres etílicos por cromatografia fase gasosa.

Resultados: Na reação controle ocorreu separação de fases e grande oscilação da vazão volumétrica, não sendo alcançada a estabilização operacional do sistema. Quando foram utilizados Triton-X ou terc-butanol houve estabilização operacional do reator em 6 tempos de residência. Na condição (A) apesar de ter sido superado a separação de fases, uma redução gradual da concentração de ésteres etílicos foi verificada, em função da dessorção da enzima do suporte pelo Triton X-100. Na condição (B) o solvente melhorou a miscibilidade do meio sem interferir negativamente na formação dos ésteres etílicos.

Conclusão: A utilização do solvente foi a melhor estratégia para evitar problemas de separação de fases sem prejudicar as propriedades catalíticas do derivado imobilizado.

Agradecimentos: CAPES e CNPq.

INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO INICIAL DO INÓCULO NO CULTIVO DA MICROALGA Phaeodactylum tricornutum

<u>Diniara Soares</u>; Daiane Maria Rogenski Penteado; Alexandre G. Becker; Luiz F. L. L. Júnior; Miguel D. Noseda; David A. Mitchell.

Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal do Paraná; Av. Cel. Francisco H. dos Santos s/n, 81531-990 – CURITIBA-PR, Brasil.

E-mail: diniara@yahoo.com.br

Objetivo: O objetivo deste trabalho foi verificar se a concentração inicial do inóculo influencia na densidade celular do cultivo da microalga marinha *Phaeodactylum tricornutum*.

Métodos: A microalga *Phaeodactylum tricornutum* foi cultivada em regime de batelada em erlenmeyers de vidro com capacidade de 2 L, volume de trabalho de 1,7 L, sala climatizada na temperatura constante de 20 °C, iluminação artificial com lâmpadas frias de 40 W, fotoperíodo de 24 h de luz e aeração com fluxo de ar atmosférico constante. O meio de cultura utilizado foi o Guillard F/2 com salinidade de 15 %o (partes por mil). Foram feitos cultivos com cinco diferentes concentrações iniciais de inóculo, conforme descrito nos resultados. A densidade celular do meio de cultura foi determinada diariamente através da contagem do número de células utilizando Câmara de Neubauer.

Resultados: Os resultados das contagens de células estão apresentados na Figura 1 abaixo:

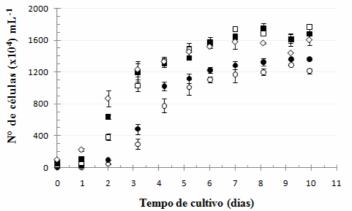


Figura 1. Curva de crescimento da microalga *Phaeodactylum tricornutum* com diferentes concentrações iniciais de inóculo. Onde (\circ) $C_1 = 5 \times 10^4$, (\bullet) $C_2 = 10 \times 10^4$, (\square) $C_3 = 30 \times 10^4$, (\blacksquare) $C_4 = 50 \times 10^4$, (\Diamond) $C_5 = 100 \times 10^4$ células mL⁻¹. Os dados apresentados são referentes à média das contagens e as barras verticais representam o erro padrão (n = 4). **Conclusão**: Observou-se que a concentração inicial do inóculo influenciou na densidade celular do cultivo. Até o quinto dia de cultivo o número de células foi maior para C_5 , mas a partir do sexto dia o número de células referentes à C_3 e C_4 foram maiores do que C_5 . Os cultivos C_1 e C_2 aumentaram até o sexto dia, mas permaneceram menores em relação aos outros cultivos (C_3 , C_4 e C_5).

INFLUÊNCIA DA PRIVAÇÃO DO NITROGENIO NO MEIO DE CULTURA PARA O AUMENTO DA PRODUÇÃO DE LIPÍDIOS

PELA Phaeodactylum tricornutum

<u>Daiane Maria Rogenski Penteado</u>; Diniara Soares; David Alexander Mitchell; Miguel Noseda; Papa Matar Ndjaye; Alexandre Becker Departamento de Bioquímica, Universidade Federal do Paraná, Av. Francisco H. Santos, s/n, 81530-900 - Curitiba-PR.

Email: daianepenteado@hotmail.com

Objetivo: O objetivo deste trabalho foi aumentar a produção de lipídios pela microalga *Phaeodactylum tricornutum* através da diminuição da concentração de nitrogênio no meio de cultura F/2 Guillard.

Métodos: A microalga foi cultivada em erlenmeyers de 2 L, utilizando-se o meio de cultura F/2 Guillard sob condições controladas de temperatura (18 a 20°C), luminosidade de 40W, sem fotoperíodo, e aeração com ar atmosférico constante. Foram utilizados 5 erlenmeyers e a cada um adicionou-se uma quantidade diferente de NaNO₂ como fonte de nitrogênio. Tomando-se como 100% a concentração de nitrogênio utilizada no meio F/2 Guillard tradicional (75 mg/L), cada erlenmeyer recebeu uma concentração de nitrogênio diminuída em 75%, 50%, 25% e 0%. A concentração dos outros componentes do meio de cultura não foi alterada. Após 14 dias, a biomassa foi separada por centrifugação e liofilizada. Determinou-se o peso seco por gravimetria, em gramas de biomassa por litro de meio de cultura. A quantidade de lipídios totais em porcentagem de biomassa seca foi determinada pela técnica de Bligh-Dyer modificada.

Resultados: Os resultados para biomassa seca e porcentagem de lipídios se encontram na tabela abaixo:

Concentração de Nitrogênio Biomassa Seca g/L %Lipídios por Biomassa Seca mg/L

75 (100%)	1,930	$17,281 \pm 0,687$
56,25 (75%)	1,588	$18,767 \pm 0,672$
37,5 (50%)	1,303	$20,688 \pm 1,422$
18,75 (25%)	1,364	$13,842 \pm 1,331$
0 (0%)	1,130	$6,297 \pm 0,874$

Conclusão: Os resultados obtidos indicam que a microalga teve um aumento de 10% na produção de lipídios em relação ao meio de cultura padrão utilizado (com 75 mg/L de NaNO₂) com uma concentração de 37,5 mg de nitrogênio por litro de meio de cultura.

BIOCONVERSÃO DA SACAROSE EM AÇÚCAR INVERTIDO E DA GLICOSE EM ÁCIDO GLICÔNICO, ATRAVÉS DE PROCESSO DESCONTÍNUO-ALIMENTADO.

Fadi A. Taraboulsi Jr, Ester J. Tomotani, Michele Vitolo

Universidade de São Paulo – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica, bloco 16 – Av. Lineu Prestes, n° 580, Butantã – Cidade Universitária, São Paulo – SP, CEP: 05508-900.

E-mail: fadibiotec@gmail.com

Objetivo: O objetivo desse trabalho foi avaliar a conversão enzimática da sacarose por processo descontínuo-alimentado, sendo a solução substrato (64g/L), adicionada ao reator segundo diferentes leis de adição.

Materiais e métodos: A invertase de *Saccharomyces cerevisiae* (Invertin®) com atividade de 1,765g ART/min.mL e a sacarose foram obtidas da MERCK®. Foram realizados testes em reator descontínuo-alimentado, onde a solução de sacarose foi adicionada através de cinco formas de vazão de alimentação diferentes: adição constante, linear crescente, linear decrescente, exponencial crescente e exponencial decrescente. A temperatura utilizada foi de 37°C e o pH definido para o valor de 5,0. O volume final em todos os testes era de 400 mL, as adições de substrato foram feitas de 6 em 6 minutos e o tempo total de reação era de 1h. A formação de ART foi averiguada com leitura em espectrofotômetro à 540nm, após realização de teste de Somogyi-Nelson.

Resultados: Através da análise das velocidades de formação de açúcares redutores dos testes realizados, concluiu-se que a forma de alimentação que gerou melhor desempenho foi a de vazão linear decrescente. Essa alimentação teve um rendimento de 100% e uma velocidade de formação de açúcares redutores de 0,40 g ART/min. O segundo melhor desempenho foi obtido com a vazão exponencial decrescente, com velocidade de 0,35 g ART/min e rendimento de 100%. A tabela abaixo ilustra os resultados obtidos com cada tipo de alimentação:

Forma de alimentação	v (g ART/min)	Rendimento (%)
Constante	0,29	92,5
Linear decrescente	0,40	100,0
Linear crescente	0,33	79,6
Exponencial decrescente	0,35	100,0
Exponencial crescente	0,30	91,9

Conclusão: As alimentações linear decrescente ([V – V_0] = F_0 . t - $(k.t^2)$ ÷2) e exponencial decrescente ([V – V_0] = - F_0 . [e^{-kt} – 1]÷k) possibilitaram obter 100% de conversão da sacarose.

USO DE OXIDORREDUTASES PARA A INTERCONVERSÃO DAS FORMAS OXIDADA E REDUZIDA DO NADP EM REATOR DESCONTÍNUO.

Diana Z. Andreotti, Ester J. Tomotani, Michele Vitolo

Universidade de São Paulo – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica, bloco 16 – Av. Lineu Prestes, n° 580, Butantã – Cidade Universitária, São Paulo – SP, CEP: 05508-900.

E-mail: dzandreotti@gmail.com

Objetivo: Viabilizar a interconversão dos cofatores NAD/NADH; NADP/NADPH solúveis, usando as enzimas glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH), e glutamato desidrogenase (GLUDH) em regime descontínuo.

Materiais e Métodos: A partir dos valores obtidos da medida das atividades da G6PDH e da GLUDH, estabeleceu-se a seguinte diretriz para o uso combinado da G6PDH e GLUDH: em um tubo de ensaio foram adicionados 5,9 mL de tampão TRIS-HCl (0,05 M; pH 7,3; 5mM MgCl₂), 2,5 mL de G6P (50mM), 0,050 mL de G6PDH (2U), 0,35 mL de 2-oxoglutarato (0,2M), 0,5 mL de GLUDH (4U) e 0,5 mL de amônia (3,2 M). Após a adição de 0,2 mL de NADP (500μM), passou-se a medir o tempo de reação e após 10min, 30min, 60min e 90min foram tomadas amostras para a dosagem de amônia, G6P, NADP e NADPH. A reação foi executada às temperaturas de 30°C e 40°C.

Resultados: Após a reação, mais de 90% e de 85%, respectivamente, da amônia e do G6P iniciais foram convertidos, em ambas as temperaturas estudadas. As concentrações de NADP e NADPH apresentaram variações próximas, a saber, 30°C [NADP: 4,3%; NADPH: 2,0%] e 40°C [NADP: 14%; NADPH: 12,0%]. Estes resultados indicariam que os cofatores teriam sido efetivamente reciclados durante a reação

Conclusão: Os dados obtidos mostram o estabelecimento da condição cíclica NADP/NADPH, com a concomitante conversão dos substratos amônia e G6P. Em vista dos resultados, serão realizados testes com o cofator imobilizado.

AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE CICLODEXTRINAS PELAS ENZIMAS DE BACILLUS firmus CEPA 7B E 37 E BACILLUS sphaericus CEPA 41

Cristiane Moriwaki; Cassiana Mazzer; Rúbia Pazzetto; Tieles Carina de Oliveira Delani e Graciette Matioli

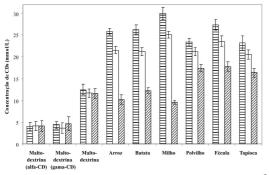
Departamento de Farmácia e Farmacologia, Universidade Estadual de Maringá; Av. Colombo, 5790, 87020-900, Maringá - PR - Brasil.

E-mail: gmatioli@uem.br

Objetivo: Produzir e purificar CGTases de *Bacillus firmus* cepa 7B, *Bacillus firmus* cepa 37 e *Bacillus sphaericus* cepa 41, bem como confrontar a produção de CDs pelas enzimas purificadas.

Materiais e Métodos: Os microrganismos foram cultivados em meio alcalofílico e as enzimas foram purificadas utilizando cromatografia de afinidade bioespecífica. A influência da origem do amido sobre a produção de CDs foi testada utilizando soluções de substrato contendo maltodextrina, amidos de mandioca, como fécula, tapioca e polvilho (cedidos pela Claspar, Maringá-PR), amidos de milho, arroz e batata. A influência do pH sob a produção de CDs foi testada utilizando valores de pH 6,0 e 8,0. As condições reacionais dos testes de produção de CDs foram: 50°C, 1 mg/L de cada enzima pura, soluções de substrato a 10% (p/V), durante 24 horas.

Resultados: Os resultados* de produção de CDs estão apresentados nas figuras que seguem:



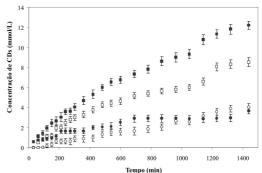


Figura 1. Efeito dos diferentes tipos de amido na produção de β -CD pelas CGTases purificadas obtidas a partir de B. firmus cepa 7B (\blacksquare), B. firmus cepa 37 (\square) e B. sphaericus cepa 41 (\blacksquare) e da maltodextrina na produção de α -CD.

Figura 2. Produção de β-CD e γ-CD em função do pH por meio da CGTase purificada obtida de *B. firmus* cepa 7B. β-CD: ■ pH 8,0 e \square pH 6,0. γ-CD: • pH 8,0 e \circ pH 6,0.

Conclusão: Para a produção de β -CD a CGTase de B. firmus cepa 7B apresentou o melhor desempenho e o substrato amido de milho, o melhor rendimento. Os valores ótimos de pH para produção de β -CD e γ -CD pela CGTase de B. firmus cepa 7B foram diferentes, a máxima produção da β -CD ocorreu em pH 8,0 e da γ -CD foi pH 6,0.

^{*} Resultados aceitos para publicação na revista Química Nova.

EFFECTS OF THE CULTURE CONDITIONS ON CYCLODEXTRIN GLYCOSYLTRANSFERASE PRODUCTION FROM BACILLUS SPHAERICUS STRAIN 41

Cristiane Moriwaki; Cassiana Mazzer; Rúbia Pazzetto; <u>Tieles Carina de</u> <u>Oliveira Delani</u> and Graciette Matioli

Pharmacy and Pharmacology Department, State University of Maringá, Av. Colombo, 5790 - 87020-900, Maringá, PR, Brazil

E-mail address: gmatioli@uem.br

Objective: The objective of this work was to study some parameters influence the CGTase production, such as types of carbon and nitrogen sources and agitation rate.

Methods: *B. sphaericus* strain 41 was cultured in liquid culture medium with different peptone sources (meat, liver, tryptone, heart, lung and trachea). The same assay was carried out using different sources of substrates (dextrin, cornstarch, cassava starch, rice starch, potato starch and soluble starch). Another assay using standard peptone (meat and casein) and soluble starch (standard), and different agitation rates (80, 120, 160 and 200 rpm) was carried out. The liquid culture medias were centrifuged and the cell-free supernatant was used to determine the enzyme activity. For estimation of cell growth, the pellets were appropriately diluted and used to determine the optical density.

Results: Results for the activity CGTase (U/mL) and optical density (OD) are shown in the following figures:

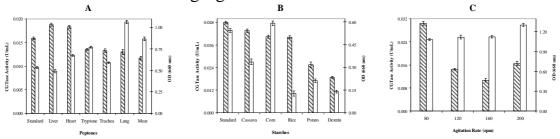


Figure 1: Effect of carbon and nitrogen sources and agitation rate on CGTase production from *B. sphaericus* strain 41. A - - Influence of different peptone sources. B - Influence of different carbon sources. C - Influence of different agitation rates. CGTase activity (U/mL). Optical density (OD) (660 nm). Bars represent the standard deviation from triplicate determinations.

Conclusion: The effect of different carbon sources on CGTase production showed that enzyme production was greatest when soluble starch (standard) was used. The influence of nitrogen sources indicated that CGTase production was higher when liver peptone. With respect to the effect of agitation rate, the highest CGTase activity occurred with the utilization of 80 rpm. Regarding the cell growth, the largest biomasses showed relatively low enzyme activity.

CARACTERIZAÇÃO DA ATIVIDADE FRUTOSILTRANSFERASE PRODUZIDA POR Asperguillus oryzae IPT 301

Rafael F. Perna, Elda S. Siva, Gisella M. Zanin, Maria F.A. Rodrigues, Alfredo E. Maiorano

Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo – Laboratório de Biotecnologia Industrial Av. Prof. Almeida Prado, 532 – 05508-901 S. Paulo, SP, Brasil

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Engenharia Química, Av. Colombo 5790, 87020-900, MARINGÁ – PR, Brasil.

E-mail: maiorano@ipt.br

Objetivo: O presente trabalho teve por objetivo estudar o efeito do pH e da temperatura na atividade da frutosiltransferase produzida por *A. oryzae* IPT 301.

Materiais e Métodos : A produção da enzima foi feita pelo cultivo de *A.oryzae* em fermentador marca Quiminox com 10L de meio de cultura contendo sacarose como principal fonte de carbono. Os ensaios foram realizados a 800 rpm, 30 °C, 0,75 vvm e pH=4,5. Após a separação das células do mosto fermentado foram determinadas as atividades frutosiltransferase e hidrolítica, tanto intracelular com a extracelular. Uma unidade de atividade frutosil-transferase (At)e hidrolítica (Ah) foi definida como a quantidade de enzima que produz um micromol de frutooligossacarídeos ou frutose, por minuto nas condições do ensaio, respectivamente. Foram determinadas as atividades enzimáticas nos seguintes valores de pH em tampão tris-acetato 0,2 mol/L: 3,5; 4,0; 4,5; 5,0; 5,5; 6,0 e 6,5. A temperatura ótima foi determinada a 35, 40, 45, 50, 55, 60 e 65°C em tampão tris-acetato 0,2 mol/L e pH 5,5.

Resultados: Observou-se que a atividade At intracelular aumenta com o aumento da temperatura mantendo-se máxima no intervalo de 55 a 65 °C, enquanto o valor de pH ótimo foi 5,5. A At extracelular apresentou temperatura ótima também entre 55 a 65 °C e faixa de pH ótimo entre 5,0 – 6,0. Por outro lado a Ah apresentou temperatura ótima igual a 65 °C e pH ótimo entre 4,5 – 5,0, enquanto a Ah extracelular apresentou valores de 55 – 65 °C e 3,5 e 6,0 para temperatura e pH ótimos, respectivamente.

Apoio Financeiro: FUNDAÇÃO DE AMPARO À PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO - FAPESP

OTIMIZAÇÃO DA HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DO AMIDO DE GRÃOS DE SORGO (Sorghum bicolor L. Moench) E AVALIAÇÃO DA FERMENTABILIDADE DO HIDROLISADO ENZIMÁTICO

<u>Carolina A. Barcelos</u>; Roberto N. Maeda; Gabriel J. V. Betancur; Nei Pereira Jr.*

Universidade Federal do Rio de Janeiro – Centro de Tecnologia _ Escola de Química. Laboratório de Desenvolvimento de Bioprocessos – Rio de Janeiro. CEP: 21949-900. E-mail: nei@eq.ufrj.br*

Objetivo: Otimizar a hidrólise enzimática do amido de grãos de sorgo e avaliar a fermentabilidade do hidrolisado enzimático utilizando uma linhagem industrial de *Saccharomyces cerevisiae*.

Metodologia: A quantificação dos açúcares redutores na etapa de otimização da hidrólise enzimática foi realizada empregando o método espectrofotométrico Somogyi-Nelson. Para a quantificação de glicose, maltose, glicerol e etanol no ensaio de fermentação foi empregado o método de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência. A quantificação da concentração celular na etapa de propagação foi realizada por metodologia turbidimétrica. Para a determinação do teor de amido nos grãos de sorgo foi adaptada uma metodologia de hidrólise enzimática descrita pela AOAC.

Resultados: O teor de amido nos grãos foi de 79% em massa seca com umidade de 14%. As condições ótimas para a hidrólise enzimática do amido de grãos de sorgo foram: diâmetro de partícula de 0,5 mm; relação sólido:líquido de 1:3 mL.g⁻¹; carga de α-amilase de 20 μL.g⁻¹ grão; carga de glucoamilase de 40 μL.g⁻¹ grão, temperatura de hidrólise com glucoamilase de 55°C, atingindo uma concentração de açúcares redutores de 245 g.L⁻¹. O ensaio realizado para a avaliação da fermentabilidade do hidrolisado dos grãos de sorgo, resultou em uma concentração máxima de etanol de 86,7 g.L⁻¹ em 16 horas de processo, o que corresponde a uma produtividade volumétrica de 5,42 g.L⁻¹.h⁻¹ e a um fator de rendimento de substrato consumido em etanol produzido de 0,51 g.g⁻¹.

Conclusão: As condições ótimas para a hidrólise enzimática do amido de grãos de sorgo foram definidas, atingindo eficiência de hidrólise de aproximadamente 100%. Os resultados obtidos no ensaio para a avaliação da fermentabilidade do hidrolisado enzimático foram superiores aos obtidos industrialmente, com valores próximos ao teórico.

OTIMIZAÇÃO DO PROCESSO DE IMOBILIZAÇÃO DE β-GALACTOSIDASE DE Aspergillus oryzae EM RESINAS DE TROCA IÔNICA

Carla Z. Guidini; <u>Janaína Fischer</u>; Larissa N. S. Santana; Vicelma L. Cardoso; Eloízio J. Ribeiro

Universidade Federal de Uberlândia/Faculdade de Engenharia Química, Av. João Naves de Ávila, 2121, Campus Santa Mônica - Bloco 1K- 38400-902, Uberlândia-MG, Brasil.

E-mail: carlazguidini@hotmail.com

Objetivo: Este trabalho apresentou como objetivo testar algumas resinas como suporte de imobilização de β -galactosidase de *Aspergillus oryzae* e otimizar o processo com a resina mais viável dentre aquelas estudadas.

Métodos: Foram realizados testes preliminares de imobilização de β-galactosidase de *Aspergillus oryzae* por processo de adsorção-ligação iônica-ligação cruzada com glutaraldeído utilizando as resinas Duolite A-568, Duolite S-761, Amberlite 252 Na, Dowex Marathon A e Dowex Marathon C. Após definição do suporte mais viável, foi proposto um Planejamento Composto Central (PCC-1) para otimização da imobilização, no qual as variáveis estudadas foram a concentração de enzima e pH do meio de imobilização à temperatura de 25°C e tempo de imobilização de 12 h. Após a definição das concentrações ótimas de enzima no meio de imobilização e do pH, foi realizado outro Planejamento Composto Central (PCC-2) para avaliar o processo de *cross-linking*, utilizando glutaraldeído como agente reticulante e analisando as variáveis concentração de glutaraldeído e tempo de reticulação, a 25°C.

Resultados: Verificou-se, a partir dos ensaios realizados, que a maior retenção de atividade enzimática ocorreu no suporte Duolite A-568. As condições otimizadas do processo imobilização de β-galactosidase nesta resina foram concentração de enzima 16 g/L e pH 4,5. Com relação ao processo de *cross-linking*, o método mais eficaz foi à adição das partículas da enzima imobilizada na solução de glutaraldeído. A análise dos resultados experimentais do PCC-2 indicou que uma concentração de 3,5 g/L de glutaraldeído e um tempo de reticulação de 1,5 h implicou na máxima atividade imobilizada.

Conclusão: Pode se concluir que a Duolite A-568 apresentou maior eficiência na imobilização de β -galactosidase. A enzima imobilizada tratada com glutaraldeído foi muito mais estável em relação ao reuso do que aquela sem referido tratamento.

CINÉTICA DA HIDRÓLISE DE LACTOSE POR β-GALACTOSIDASE DE Aspergillus oryzae IMOBILIZADA DE EM DUOLITE A-568

Carla Z. Guidini; Janaína Fischer; Larissa N. S. Santana; Vicelma L. Cardoso; Miriam M. de Resende; Eloízio J. Ribeiro

Universidade Federal de Uberlândia/Faculdade de Engenharia Química, Av. João Naves de Ávila, 2121, Campus Santa Mônica - Bloco 1K- 38400-902, Uberlândia-MG, Brasil.

E-mail: carlazguidini@hotmail.com

Objetivo: O objetivo deste trabalho foi estudar a cinética da reação de hidrólise de lactose por β-galactosidase de *Aspergillus oryzae* imobilizada em Duolite A-568, analisando a influência da concentração de lactose, glicose e galactose na atividade enzimática.

Métodos: A imobilização foi realizada nas condições: pH 4,5, concentração de enzima 16 g/L, temperatura 25°C e tempo 12 horas. Posteriormente foi realizado o processo de *cross-linking*, utilizando glutaraldeído como agente reticulante na concentração de 3,5 g/L e tempo de reticulação 1,5 h. Com a enzima imobilizada foi realizado o estudo da influência da concentração de lactose no meio reacional nas concentrações de 5 a 250 g/L. Na sequência realizou-se um Planejamento Composto Central (PCC) para avaliar a influência simultânea da concentração inicial de lactose, glicose e galactose na atividade enzimática. A partir dessa análise foi proposto um estudo da influência da inibição pelo produto (galactose), variando a concentração inicial de lactose na faixa de 5 a 60 g/L e galactose de 0 a 22,5 g/L no meio reacional, testando os modelos de inibição competitiva, não-competitiva, mista linear, parcialmente não-competitiva e acompetitiva.

Resultados: O modelo cinético de Michaelis-Menten foi ajustado aos resultados de taxa inicial de reação em função da concentração de lactose utilizando a regressão não linear pelo *software Statistic 7.0*. Os valores das constantes V_m e K_m foram respectivamente, 0,7069 U e 35,30 mM. Na análise dos resultados do PCC, notou-se uma inibição pela galactose. Através da discriminação de modelos cinéticos de inibição pode-se observar um melhor ajuste para o modelo de inibição competitiva pela galactose onde estimaram-se os valores das constantes V_m de 86,96 U e K_m de 49.17mM.

Conclusão: Pode-se concluir que a galactose exerceu inibição competitiva sobre a atividade de β-galactosidase imobilizada em Duolite A-568.

CARACTERIZAÇÃO DAS PROPRIEDADES CATALÍTICAS DE LIPASES LIVRES E IMOBILIZADAS EM QUITOSANA POR LIGAÇÃO COVALENTE

André G. Varela¹, João C. M. Dagostin¹, Eduardo J. Agnes¹, <u>Ernandes B.</u> Pereira^{2*}

¹Universidade do Extremo Sul Catarinense/UNESC, Criciúma-SC *²Dept. Farmácia, Universidade Federal de Alfenas, UNIFAL 37130-000-Alfenas-MG, E-mail: ernandes@unifal-mg.edu.br

Objetivo: Determinar as propriedades catalíticas em meio aquoso e orgânico de lipases oriundas de fontes microbiana (*Candida rugosa*) e animal (pâncreas de porco) nas formas livres e imobilizadas em quitosana por ligação covalente previamente ativada com glutaraldeído.

Materiais e Métodos: A caracterização das propriedades catalíticas tais como pH ótimo, temperatura ótima e estabilidade térmica das lipases livres e dos derivados preparados foi realizada pelo método de hidrólise da emulsão de azeite de oliva. O desempenho catalítico dos derivados preparados em meio orgânico foi estimado na esterificação de ácidos carboxílicos (C4-C8) com álcoois alifáticos.

Resultados: A lipase pancreática na forma livre apresentou melhor atividade hidrolítica a 55 °C, tampão fosfato pH 7,0 e concentração de azeite de oliva de 50% (m/m). A lipase microbiana apresentou maior atividade catalítica na hidrólise da emulsão de azeite de oliva a 50% (m/m) a 37°C e também em pH neutro (7,0). Após a imobilização, foi verificado um deslocamento do pH ótimo dos biocatalisadores para pH ácido. O processo de imobilização permitiu aumentar a temperatura ótima e a estabilidade térmica dos biocatalisadores, mostrando que as interações entre a enzima e o suporte resultaram em uma estrutura mais rígida aos biocatalisadores frente à temperatura. Em reações em meio orgânico na esterificação de ácidos carboxílicos com diferentes tipos de álcoois, os melhores resultados foram obtidos empregando ácido propiônico e álcool octílico, da ordem de 40%.

Agradecimentos: Os autores agradecem ao PIBIC/CNPq e UNESC pelo suporte financeiro.

IMOBILIZAÇÃO E ESTABILIZAÇÃO DE LIPASE EM PARTÍCULAS DE QUITOSANA: EFEITO DO TAMANHO DE PARTÍCULA SOBRE A ATIVIDADE DO BIOCATALISADOR

Rafael O. de Aguiar¹, Gabriel H. Hendler¹, Vanessa D. De Lucca¹, Eduardo J. Agnes¹, Marilucia R. Pereira¹, Ernandes B. Pereira^{2*}

37130-000-Alfenas-MG, E-mail: ernandes@unifal-mg.edu.br

Objetivo: O objetivo do trabalho foi preparar partículas de hidrogéis de quitosana ativadas por glutaraldeído na imobilização e estabilização de lipase de *Candida rugosa* e verificar o efeito do tamanho de partícula sobre a atividade hidrolítica da enzima. As propriedades bioquímicas e cinéticas do biocatalisador selecionado foram estimadas na hidrólise do azeite de oliva.

Materiais e Métodos: Na preparação das partículas, quitosana em pó foi solubilizada em solução de ácido acético e, posteriormente, coagulada em solução de hidróxido de sódio, seguida por ativação com glutaraldeído em pH 7,0 por 24h. As partículas ativadas foram trituradas e classificadas quanto ao tamanho de partícula e, em seguida, a *Candida rugosa* lipase foi covalentemente imobilizada em tampão fosfato. As propriedades bioquímicas e cinéticas da lipse livre e do derivado selecionado foram caracterizadas quanto ao pH (6 a 8), temperatura (37 a 55 °C), estabilidade térmica, concentração do substrato (azeite de oliva) e rendimento de imobilização.

Resultados: A enzima foi totalmente imobilizada, independente do tamanho de partícula. Entretanto, a atividade máxima da lipase imobilizada em partículas de quitosana com diâmetro de partícula (d_p) acima de 1 mm foi de 660 U/g de gel e os derivados preparados em quitosana com diâmetro de partícula entre 0,5<d_p<1,0 mm, a atividade hidrolítica máxima foi de 990 U/g de gel, mostrando que imobilização da enzima em partículas de menor diâmetro favoreceu o acesso do substrato ao microambiente da enzima imobilizada. O pH ótimo do derivado selecionado foi deslocado de 8,0 para 6,0 e a temperatura ótima aumentou de 37 para 40 °C. A lipase imobilizada foi mais estável termicamente que a lipase livre.

Agradecimentos: Os autores agradecem ao PIBIC/CNPq e UNESC.

¹Universidade do Extremo Sul Catarinense-UNESC, Criciúma-SC

^{*2}Dept. Farmácia, Universidade Federal de Alfenas, UNIFAL

ATIVIDADE E ESTABILIDADE DA LIPASE BTL2 DE B. thermocatenulatus EM E. coli RECOMBINANTE EM MEIO AQUOSO E COM SOLVENTES ORGÂNICOS

Ana Maria Vélez, Dasciana S. Rodrigues, Mônica R. C. Iemma, e Raquel L. C. Giordano

Universidade Federal de São Carlos (UFSCar). Departamento de Engenharia Química. Via Washington Luiz, km 235, São Carlos, SP, Brasil. e-mail: raquel@ufscar.br

Objetivos: Caracterização cinética e bioquímica da lipase BTL2 produzida por *E. coli* recombinante, pela determinação das constantes cinéticas e da estabilidade. Avaliação do potencial de aplicação da lípase BTL2 em biocatálise, verificando-se a sua estabilidade frente a solventes orgânicos hidrofílicos e hidrofóbicos.

Métodos: A atividade lipolítica da enzima livre foi determinada usando o método p-Nitrofenilpalmitato (p-NPP) como substrato. Uma unidade de atividade enzimática foi definida como a quantidade de enzima capaz de catalisar a produção de 1 μmol de p-nitrofenol por minuto a 37°C e pH 8.0.

Foi determinado o efeito da temperatura e do pH na atividade e estabilidade em meio aquoso. Foi estudado o efeito de diversos solventes orgânicos e de vários compostos na atividade e estabilidade de BTL2.

Resultados: Estudo de caracterização cinética da enzima mostrou que a temperatura de máxima atividade é 65°C, com energia de ativação igual a 142,3 kJ/mol e máxima atividade em pH 8.5. Os resultados preliminares da atividade e estabilidade de BTL2 em diversos solventes orgânicos são mostrados na tabela a seguir:

Substância	log P	Concentração	Atividade	Atividade residual após
		(v/v)	Inicial (%)	1 h, 37°C(%)
Tampão fosfato		50mM	$100 \pm 1,3$	90±1,1*
2-propanol	-0,28	5%	94±1,0	$70 \pm 0.7^*$
2-propanol		10%	82 ± 0.8	$62 \pm 1,2^*$
2-propanol		20%	79±1,2	58 ± 1,4*
Metanol	-0,76	20%	86	75
Etanol	-0,24	20%	83	65
Triton x-100		0,04%	130	126
SDS		0,02%	110	100
Tween 80		0,02%	116	104

^{*}triplicata

Conclusões: Triton x-100 é o aditivo que melhor evita agregação das moléculas de enzima, resultando nas mais altas atividades iniciais de BTL2, além de apresentar a menor perda de atividade após 1 h de incubação, sendo propanol o mais deletério.

PROPRIEDADES ENZIMÁTICAS DA β-GALACTOSIDASE DE Kluyveromyces marxianus ATCC 16045 E CCT 7082

Ana Paula Manera¹; Anna Rafaela C. Braga²; Luisa Sala²; Patrícia A. Gomes², Joana C. Ores²; Francisco Maugeri Filho¹; Susana J. Kalil²* ¹ Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas; 13083-970 – CAMPINAS-SP, Brasil.

Objetivo: O objetivo deste trabalho foi comparar algumas propriedades enzimáticas da enzima β-galactosidase obtida de duas cepas de *Kluyveromyces marxianus* (ATCC 16045 e CCT 7082).

Métodos: A enzima β-galactosidase foi obtida por fermentação submersa. Para determinação do pH ótimo, foram testados valores de pH entre 2,6 e 9,0 utilizando diferentes tampões, e para determinação da temperatura ótima variou-se a mesma entre 25 e 60°C. A partir da temperatura ótima determinou-se a energia de ativação da enzima (E_a). A estabilidade térmica da enzima foi avaliada em termos da constante cinética de desnaturação (K_d) e meia-vida da enzima ($t_{1/2}$) nas temperaturas de 35 a 55°C, com isso determinou-se a energia de ativação da reação de desnaturação da enzima (E_d) e os parâmetros termodinâmicos (ΔG , ΔH , ΔS). Os parâmetros cinéticos (K_m e $V_{máx}$) foram determinados para os substratos o-nitrofenil- β -D-galactopiranosideo (oNPG) e lactose a partir da equação de Michaelis-Menten.

Resultados: As propriedades enzimáticas obtidas para as enzimas das duas cepas em estudo estão apresentadas na tabela a seguir:

Propriedades enzimáticas	ATCC 16045	CCT 7082
pH ótimo	7,3	7,3
Temperatura ótima (°C)	45 - 50	35-37
E _a (kJ/mol)	14,7	24,5
$K_d (min^{-1})^{1}$	0,0003	0,001
$t_{1/2}\left(h\right)^{-1}$	38,5	10,5
$E_d (kJ/mol)^1$	328,5	316,1
$\Delta G (kJ/mol)^{-1}$	107	74,3
$\Delta H (kJ/mol)^{-1}$	351,4	313,5
$\Delta S (kJ/mol.K)^{1}$	0,792	0,776
D^1	7666,7	2300
Z	6,62	6,41
K_{m} (mM)	$5,89^2/1,98^3$	$88,4^2/12,2^3$
V _{máx} (U/mL)	$70.9^2/20.0^3$	$44,8^2/8,5^3$

¹ parâmetros para a temperatura de 35°C; ² para o substrato lactose; ³ para o substrato *o*NPG.

Conclusões: Observa-se que a enzima β -galactosidase obtida da cepa ATCC 16045 apresentou maior estabilidade que a obtida da cepa CCT 7082, a partir destes resultados pode-se definir aplicações industriais para cada enzima.

Agradecimentos: Fapergs, Procad/CAPES, CNPq.

² Escola de Química e Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande; Rua Eng. Alfredo Huch, 475, 96201-900 – RIO GRANDE-RS, Brasil.

^{*}E-mail: dqmsjk@furg.br.

TRIAGEM DE COMPOSTOS ORGÂNICOS PARA INCORPORAR MATRIZES HÍBRIDAS BASEADAS EM SiO₂

André L. Silva, Ariela V. Paula, Júlio C. Santos, Heizir F. de Castro* Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo Caixa Postal 116, 12602-810 – LORENA-SP, Brasil E-mail: *heizir@dequi.eel.usp.br

Objetivo: Sintetizar compósitos híbridos pela técnica sol-gel via alcóxido utilizando tetraetilortosilicato (TEOS) e diferentes componentes orgânicos visando avaliar o efeito do agente orgânico na evolução do sol para gel e nas propriedades finais dos suportes para imobilizar a enzima lipase.

Materiais e Métodos: Os compósitos híbridos de SiO₂-PVA, SiO₂-Quitosana, SiO₂-Ciclodextrina, SiO₂-Carboxi-metil-celulose (SiO₂-CMC) e SiO₂-Hidróxi-etil-celulose (SiO₂-HEC) foram sintetizados pela técnica solgel e utilizados para imobilizar *Candida rugosa* lipase (Tipo VII, Sigma) por adsorção física. O potencial catalítico dos diversos derivados imobilizados foi quantificado pela atividade hidrolítica (hidrólise do azeite de oliva) e sintética (esterificação do butanol com ácido butírico).

Resultados: Os valores de atividade hidrolítica foram similares para todos os derivados imobilizados sugerindo que nas condições adotadas, todos os suportes tiveram o mesmo tipo de interação com a enzima resultando em rendimentos de imobilização na faixa de 26,58 a 30,81%. Entretanto, em meio não aquoso foram constatadas diferenças marcantes em função do tipo de agente orgânico utilizado. As atividades sintéticas variaram entre 0,60 a 2,67 U/g, permitindo a classificação dos componentes orgânicos em termos de compatibilidade com a lipase de *Candida rugosa* na seguinte ordem: CMC < PVA < HEC, Ciclodextrina < quitosana.

Matriz Híbrida	Atividade Hidrolítica (U/g)	Atividade Sintética (U/g)	Recuperação da Atividade (%)	
SiO ₂ -PVA	2040	1,03	30,81	
SiO ₂ -Ciclodextrina	2284	2,17	28,90	
SiO ₂ -CMC	2192	0,60	27,04	
SiO ₂ -Quitosana	1835	2,67	26,58	
SiO ₂ -HEC	1816	2,33	26,63	

Conclusão: Em função desses resultados, estudos estão em fase de desenvolvimento visando caracterizar as propriedades morfológicas do compósito mais ativo em meio orgânico (SiO₂-quitosana), bem como testar sua adequação para imobilizar outras fontes de lipase.

Agradecimentos: FAPESP, CNPq e CAPES.

EFEITO DE ADITIVOS (GLICEROL, POLIETILENOGLICOL E TREALOSE) NA ESTABILIDADE DE α-GLUCOSIDASE IMOBILIZADA DE Saccharomyces cerevisae

<u>Tony M. Silva</u>¹, Amadi O. Chioma², Benevides C. C. Pessela², César Mateo², Roberto Fernadez Lafuente², José M. Guisan², Maria de Lourdes T. M. Polizeli¹.

1Departamento de Biologia - FFCLRP - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, Brasil.

2 Departamento de Biocatálisis, Instituto de Catálisis-CSIC, Campus UAM, Cantoblanco, Madri-Espanha.

Email: tonymarcio@usp.br

Objetivos: O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de aditivos (glicerol, polietilenoglicol e trealose) na estabilidade térmica de uma comercial α -glucosidase de *Saccharomyces cerevisae* imobilizada em Sepharose 4B ativada com Brometo de Cianogênio.

Métodos: Comercial α -glucosidase foi adquirida junto a Sigma. A enzima foi imobilizada por interação covalente unipontual em comercial Sepharose 4B ativada com Brometo de Cionagênio (Pharmacia, Sweden) a 25°C em pH 7,0. Para a medida da atividade enzimática do derivado foi utilizando α -PNPG 4mM a pH 7,0. Os aditivos utilizados foram glicerol (10, 30 e 50%), polietilenoglicol 1500 Daltons (10 e 30%), polietilenoglicol 30000 Daltons (10 e 30%), polietilenoglicol 600 Daltons (10 e 30%) e trealose (5, 10, 20 e 30%).

Resultados: Os resultados obtidos são mostrados na tabela abaixo.

Aditivos (%)	Meia vida do derivado a 45°C
	(min)
CNBr sem aditivos	≅200
Glicerol 10%	≅ 60
Glicerol 30%	≅230
Glicerol 50%	>300
Polietilenoglicol 1,5 kDa 10%	≅120
Polietilenoglicol 1,5 kDa 30%	>500
Polietilenoglicol 30 kDa 10%	≅180
Polietilenoglicol 30 kDa 30%	>360
Polietilenoglicol 0,6 kDa 30%	>400
Trealose 5%	>600
Trealose 10%	>500
Trealose 20%	>400
Trealose 30%	≅120

Conclusão: A presença dos aditivos glicerol, polietilenoglicol e trealose aumentaram consideravelmente a estabilidade do derivado. A melhor concentração de glicerol observada foi 50%. A influencia do polietilenoglicol variou em função do tamanho e da concentração, e a trealose na concentração de 5% foi a que melhor protegeu o derivado contra a desnaturação térmica.

IMOBILIZAÇÃO DA ENZIMA AMILOGLICOSIDASE EM SUPORTES ORGÂNICOS E INORGÂNICOS E APLICAÇAO EM REATORES BATELADA E LEITO FLUIDIZADO

João Felipe Bernabé, Nathália Castro Leme, <u>Renata Francielle Bombaldi de Souza</u>, Fernanda Carla Bombaldi de Souza, Heitor Noda, Hugo Ramón Valério Ribeiro da Silva, Marcelo Fernandes Vieira, Paulo Waldir Tardioli, Flávio Faria de Moraes, Gisella Maria Zanin.

Departamento de Engenharia Química, Universidade Estadual de Maringá; Av.Colombo, 5790, 87020-900 – MARINGÁ-PR, BRASIL.

E-mail: sakura_rfbs@hotmail.com

Introdução: Os hidrolisados enzimáticos são os mais importantes amidos modificados. Incluem desde dextrinas a xarope de glicose, passando pelas ciclodextrinas. O xarope de glicose, além de ser largamente utilizado na indústria alimentícia, poderia ainda servir como matéria-prima para a obtenção de bens de alto valor comercial, como por exemplo o sorbitol, um açúcar de álcool largamente empregado em indústrias alimentícias, farmacêuticas e de química fina.

Objetivo: O presente trabalho tem por objetivo avaliar a produção de xarope de glicose a partir de maltodextrina por rota enzimática.

Métodos: A primeira etapa do processo envolve a liquefação do amido usando a enzima alfa-amilase na forma solúvel. O objetivo desta etapa é produzir uma mistura de oligossacarídeos de baixa massa molecular. A segunda etapa envolve a hidrólise dos oligossacarídeos usando a enzima Amiloglicosidase (AMG) imobilizada reversivelmente no suporte comercial DEAE-Sepharose (troca aniônica) e irreversivelmente no suporte sílica-glutaraldeído.

Resultados: Rendimentos de imobilização acima de 75% foram obtidos para ambos os derivados. Os valores de recuperação de atividade foram de 56 e 76% para a sílica-glutaraldeído e DEAE-sepharose, respectivamente. Em reator batelada com AMG livre obteve-se uma conversão de maltodextrina em glicose da ordem de 95% em 90 minutos de reação, enquanto no reator de leito fluidizado com AMG imobilizada em sílica alcançou-se uma conversão da ordem de 100% em vinte minutos.

Conclusão: Conclui-se que, nas condições usadas foi possível preparar biocatalisadores imobilizados com alto rendimento de imobilização e satisfatória retenção de atividade em pouco tempo de reação.

PRODUÇÃO DE CICLODEXTRINAS A PARTIR DE GRÂNULOS DE AMIDO DE MILHO NA PRESENÇA DE ETANOL

<u>Luiza P. V. Calsavara</u>; Tiago A. Balbino; Gisella M. Zanin e Flávio F. de Moraes

Departamento de Engenharia Química, Universidade Estadual de Maringá, Avenida Colombo, 5790 - BL D-90, 87020-900 - MARINGÁ, PR E-mail: luiza@deq.uem.br

Objetivo: Foram testadas diferentes condições de reação, visando aumentar o rendimento da produção de Ciclodextrinas (CDs) a partir dos grânulos de amido de milho e quantificar a influência da concentração da enzima ciclomaltodextrina glucanotransferase Toruzyme® e da concentração de etanol.

Métodos: Variou-se a concentração de etanol na suspensão do substrato (0; 5; 10 ou 15% v/v) e a concentração de enzima (0,05; 0,1 ou 0,2% v/v). Todos os experimentos foram conduzidos por 24 horas a 65°C e pH 6, em um reator batelada de 100 mL, sob agitação magnética, utilizando-se 15 g de grânulos de amido de milho. As amostras foram analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência que determina as CDs α , β e γ ou pelo método colorimétrico da fenolftaleína a 550 nm, que é seletivo para a β -CD.

Resultados: Observou-se uma maior produção de α-CD e β-CD para as concentrações de etanol de 10 e 15% v/v. A utilização de 10% de etanol no meio reacional aumentou a produção de β-CD em torno de 18% e praticamente triplicou a produção de α-CD. Para a γ-CD, independente da concentração de etanol utilizada, a produção foi muito baixa. A concentração de 0,1% v/v de enzima é a mais vantajosa, pois utilizando-se o dobro da enzima (0,2% v/v), houve um aumento na produção de β-CD de apenas 5% após 12 horas de reação e 9,2% após 24 horas. Obteve-se baixos rendimentos para a concentração de 0,05% v/v. A atividade específica da enzima foi de 65,49 U/mg de proteína.

Conclusão: Para a concentração de amido 15% m/v, a 65°C e pH 6, é mais indicado trabalhar com 10% v/v de etanol, 0,1% v/v de enzima e tempo de reação de 12 horas.

MITIGAÇÃO DE DIÓXIDO DE CARBONO POR MICROALGA EM REATOR TUBULAR VERTICAL COM RECICLO DE MEIO

Michele G. de Morais, Jorge A. V. Costa

Escola de Química e Alimentos, Laboratório de Engenharia Bioquímica, Universidade Federal do Rio Grande, Caixa Postal 474, 96201-900, RIO GRANDE – RS, Brasil. E-mail: <u>jorge@pq.cnpq.br</u>

Objetivo: Determinar a concentração de celular para manter a *Spirulina* sp. cultivada em fotobiorreator tubular vertical (FBRT) com remoção de biomassa e reciclo de meio visando obter máxima mitigação de CO₂.

Material e Método: *Spirulina* sp. LEB 18 foi cultivada em FBRT de 2 L com meio de cultivo Zarrouk modificado sem fonte de carbono original. Os cultivos foram mantidos a 30°C com fotoperíodo 12 h claro/escuro e iluminância de 1200 Lux. A concentração inicial de biomassa foi 200, 400, 600, 800 e 1000 mg L⁻¹. Foi realizado remoção diária da biomassa produzida e retorno das células até concentração inicial. A biomassa produzida e o meio de cultivo foram separados por filtração, e o meio sem microalga foi devolvido ao cultivo (reciclo de meio). A duração dos cultivos foi 185 h.

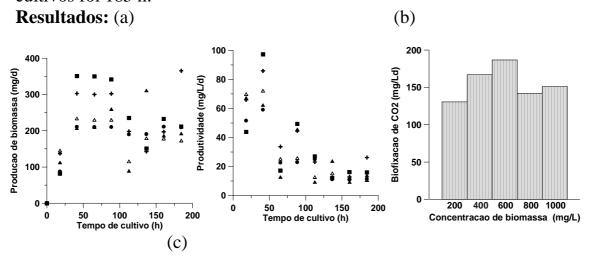


Figura 1. (a) Produção de biomassa, (b) produtividade em função do tempo de cultivo para Spirulina sp. LEB 18 com remoção de biomassa até retorno a concentração celular de 200 mg L^{-1} (\bullet), 400 mg L^{-1} (\blacksquare), 600 mg L^{-1} (\blacksquare), 800 mg L^{-1} (\triangle) e 1000 mg L^{-1} (Δ), e (c) Mitigação de dióxido de carbono em função da concentração celular.

Conclusão: Quando a microalga *Spirulina* sp. LEB 18 foi mantida na concentração celular de 600 mg L^{-1} foi alcançada a máxima mitigação de CO_2 . Nesta condição os valores obtidos foram 85.9 ± 6.0 mg L^{-1} d⁻¹ de produtividade de biomassa e 186.8 ± 73.1 mg L^{-1} d⁻¹ de fixação de CO_2 .

CONSUMO DE OXIGÊNIO POR CIANOBACTÉRIA EM VINHAÇA A DIFERENTES TEMPERATURAS

Reinaldo G. Bastos; Paola R. de Paiva; Octávio A. Valsechi; Jorge J. C. Lopes; Clóvis Parazzi

Centro de Ciências Agrárias (CCA), Universidade Federal de São Carlos (UFSCar); Via Anhangüera km 174, 13600-970 – ARARAS - SP, Brasil.

E-mail: reinaldo@cca.ufscar.br

Objetivo: Avaliar as taxas de consumo de oxigênio pela cianobactéria *Aphanothece microscópica Nägeli* para diferentes condições de temperatura em cultivo heterotrófico sobre vinhaça, principal água residuária do setor sucroenergético

Métodos: O inóculo da cianobactéria *Aphanothece microscópica Nägeli foi* cedido pela (FURG), sendo propagadas no Laboratório de Microbiologia Aplicada e Controle (LABMAC/CCA/UFSCar) em meio padrão BGN. A vinhaça foi obtida de usinas de açúcar e álcool da região de Araras, SP, diretamente de colunas de destilação a aproximadamente 95°C. Os cultivos ocorreram em frascos Erlemeyer de 250mL, aeração forçada por borbulhamento de 1L/min a 1atm de pressão absoluta, 10% de inoculo, pH da vinhaça ajustado em 7,6 e temperaturas entre 25 e 45°C. A concentração de oxigênio dissolvido foi medida durante os ensaios em oxímetro acoplado ao sistema. A taxa de consumo de oxigênio foi obtida considerando região linear (ordem zero) da curva concentração de oxigênio *vs* tempo, ou seja, nos primeiros intervalos de tempo. O coeficiente global de transferência de oxigênio gás-líquido (K_La) foi obtido pelo método dinâmico, considerando re-oxigenação do meio e concentração de oxigênio em regime permanente.

Resultados: Os resultados sugerem que em cultivo heterotrófico sobre água residuária, a cianobactéria *Aphanothece* apresenta baixa demanda de oxigênio.

Conclusões: Os resultados são promissores no que diz respeito à aplicação deste microrganismo em processos de despoluição da vinhaça oriunda do setor sucroenergético.

ESTUDO DA VISCOSIDADE NO PROCESSO DE OBTENÇÃO PRODUTO LÁCTEO: KEFIR

Jackeline A. Gama¹, Artur Vagner U. da S. Gomes¹, Sheila B. Rezende^{1,2}, Roneval F. de Santana²; Álvaro S. Lima^{1,2}, Cleide M. F.Soares^{1,2*}

¹Universidade Tiradentes Avenida Murilo Dantas, 300- Farolândia- 49032-490, Aracaju-SE-Brazil; ²Instituto de Tecnologia e Pesquisa-ITP, Prédio ITP Avenida Murilo Dantas, 300- Farolândia- 49032-490, Aracaju-SE Email: <u>cleide_mara@itp.org.br</u>;

Objetivo: Avaliar as condições de processos para obtenção de um produto lácteo utlizando grãos de Kefir, tendo como variável resposta a viscosidade do produto obtido.

Métodos: Foi utilizado o consórcio microbiano kefir, mantidos em solução de açúcar mascavo à 10% (p/v). A fermentação ocorreu em erlemeyers de 500 mL, onde foram pasteurizados o leite e o leite em pó (0, 7,5 e 15 g) em fogão convencional a 80°C durante 10 minutos e resfriados até a temperatura de fermentação a ser testada (25, 35 e 45°C), sendo após, inoculados com grãos de kefir (5, 7,5 e 10%), sem agitação durante 24 horas de processo. Foi utilizado o delineamento experimental 2³, com repetição no ponto central para avaliar a variável resposta, em função das seguintes variáveis: quantidade de leite em pó, temperatura e a concentração de kefir. A viscosidade do produto lácteo foi selecionada como variável resposta para o planejamento de experimento.

Resultados: A viscosidade foi determinada na velocidade angular de 30 rpm. Os resultados mostram que a viscosidade foi influenciada significativamente pela adição de leite em pó, temperatura, grãos de kefir, interação leite em pó/grãos de kefir, temperatura/grãos de kefir e temperatura/grãos de kefir/leite em pó num nível de confiança de 95 %. A maior viscosidade obtida foi de 2840cp com 15 g de leite em pó a uma temperatura de 45°C e 48 g de grãos de kefir e a menor viscosidade, foi observada no ensaio com 0g de leite em pó a 25°C e 48g de grãos de kefir.

Conclusão: Conclui-se que com a elevação da temperatura e adição de leite em pó, obtemos um produto mais viscoso, o que é de interesse para os consumidores de produtos lácteos do nordeste.

ESTUDO DA PRODUÇÃO DE MANANASE POR Aspergillus niger (LPB-28 E LPB-59) EM FERMENTAÇÃO NO ESTADO SÓLIDO

<u>Valesca Weingartner</u>; Carlos Ricardo Soccol; Thaísa Scheuer; Luciana Porto de Souza Vandenberghe.

Departamento de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, Universidade Federal do Paraná; Av. Comendador Francisco H. dos Santos, s/nº, 81531-990, Cx. Postal: 1901, CURITIBA – PR, Brasil.

E-mail: valesca83@hotmail.com

Objetivo: Estudar a cinética de produção da mananase por fermentação no estado sólido (FES) com casca de soja como suporte/substrato, e avaliar o crescimento e viabilidade do microrganismo produtor selecionado, *Aspergillus niger*.

Material e Métodos: A FES foi conduzida durante 8 dias, com análise a cada 24 horas, em frascos de Erlenmeyer de 125 mL contendo 5 g de casca de soja, solução nutritiva (Puchart et al., 2004) e inóculo (1x10⁷ esporos/mL), com umidade inicial de 75%, mantidos em estufa a 28 °C. A extração da mananase foi realizada por meio de agitação durante 10 minutos, de 5 g do fermentado com tampão citrato de sódio 50 mM pH 5, seguida de filtração, centrifugação por 30 minutos e diluição (1:5) para determinação da atividade em espectrofotômetro a 540 nm segundo a metodologia de Rätto e Poutanen (1988), adaptada para a mananase. Os resultados foram expressos em U g⁻¹. Para determinar a interrupção do crescimento do inóculo, ensaios com 1 mL de suspensão contendo 359 esporos foram realizados em frascos de Erlenmeyer de 250 mL, com 50 mL do meio de cultura Ágar Locust Bean Gum 2% e mantidos em estufa a 28 °C. Um frasco foi retirado a cada 24 horas, durante 9 dias, e diluído apropriadamente para realização da contagem de esporos em câmara de Neubauer e inoculação (100 µL pelo método Pour Plate) em placas de Petri (duplicata) contendo 20 mL do mesmo meio de cultura. Após 2 dias em estufa a 28 °C as colônias foram contadas a fim de determinar a viabilidade dos esporos.

Resultados e Conclusão: A produção de mananase da cepa de *A. niger* LPB-28 atingiu o maior nível no 6º dia 22,55 U g⁻¹contra o 7º dia da cepa LPB-59 com 22,45 U g⁻¹. Dessa forma a cepa LPB-28 foi selecionada para a continuidade dos estudos. A avaliação da viabilidade e crescimento da cepa selecionada mostrou que o 6º dia é melhor para interromper o crescimento do inóculo. Nestas condições obteve-se também uma maior contagem das colônias: 5,65x10¹² UFC/mL. Inicialmente, a produção de inóculo era realizada em 7 dias.

AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DE DIFERENTES FATORES NO CRESCIMENTO MICELIAL RADIAL DE Pycnoporus sanguineus CULTIVADO EM RESÍDUOS DA PALMEIRA-REAL-DA-AUSTRÁLIA (Archontophoenix spp)

Josiane Borderes^a, <u>Alessandra Costa</u>^b, Rita de C. S. C. Valle^b, Lorena B. B. Tavares^b

E-mail: alessandra.cst@gmail.com

Objetivos: Avaliar a influência de diferentes fatores no crescimento micelial radial do fungo *Pycnoporus sanguineus* cultivado em resíduos do processamento da palmeira-real-da-austrália, buscando viabilizar e otimizar a produtividade de biomassa.

Materiais e Métodos: O fungo foi cultivado em placas de Petri contendo meio sólido composto por estipe e/ou bainhas medianas, os quais são resíduos provenientes do processamento da palmeira-real-da-austrália. Nestes sistemas foram avaliados os efeitos de diferentes fontes de carbono (farelos de soja, arroz e trigo), valores iniciais de pH (4.5, 6.5 e 8.5) e regimes de luminosidade (claro contínuo e 24h claro/24h escuro) no crescimento micelial radial do *P. sanguineus*. Para verificar a influência dos diferentes fatores, o delineamento experimental seguiu o esquema fatorial 2 x 3 x 3 x 2 (2 substratos base, 3 fontes de nitrogênio, 3 pHs e 2 formas de luminosidade) com 3 repetições.

Resultados: A bainha mediana apresentou melhores resultados em relação ao estipe na velocidade de crescimento micelial radial de *P. sanguineus*, independente dos demais fatores analisados. As fontes de nitrogênio, quando analisadas independentemente, se mostraram significativas, sendo que o farelo de trigo e o farelo de soja promoveram valores de crescimento de raio maiores em relação ao farelo de arroz. Já os valores de pH e o fator luminosidade, quando analisados independentemente, não apresentaram influência significativa no crescimento micelial radial.

Conclusões: Os resultados mostraram que os resíduos do processamento de palmeira-real-da-austrália (bainhas e estipe) são substratos viáveis para o cultivo de *P. sanguineus*, principalmente quando suplementados com os farelos de trigo e soja. Sendo de grande importância a futura investigação dos compostos produzidos por este fungo quando cultivado nestes resíduos.

^a Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Regional de Blumenau (FURB), Rua São Paulo 3250, 89030-000, Blumenau- SC, Brasil.

^b Departamento de Engenharia Química, FURB.

AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO CELULAR E PRODUÇÃO ENZIMÁTICA DE Aspergillus niger NA FERMENTAÇÃO EM ESTADO SÓLIDO DE RESÍDUOS DE FARELO DE ARROZ E MARACUJÁ

<u>Christiane P. Rocha</u>; Ubirajara C. Filho; Vicelma L. Cardoso Universidade Federal de Uberlândia – Faculdade de Engenharia Química Caixa Postal 593 - 38400-902 Uberlândia – MG

E-mail: rochachristiane@uol.com.br

Objetivo: Avaliar cepas de *Aspergillus niger* ATCC 16404, 1057 e 9029 com base na capacidade de produção das enzimas invertase, amilase e celulase em fermentação em estado sólido com resíduos da indústria de suco de maracujá (M) e beneficiamento de arroz (A) como fonte de substrato.

Materiais e Métodos: Em erlenmeyer de 250 mL foram colocados 15 g de casca de maracujá e 15 g de farelo de arroz. Ao substrato foi adicionado 30 mL de inoculo, sendo que a umidade correspondia ao meio de cultura adicionado. O inoculo consistia de uma solução de água de batata com 20 g/L de glicose após dois dias de incubação. O processo fermentativo para a produção das enzimas ocorreu a temperatura ambiente (28 ± 3°C) por 96 h. Ao final da fermentação foi realizada a extração do meio fermentado e a solução foi filtrada. A atividade de hidrólise em invertase, amilase e celulase foram feitas pelo método das taxas iniciais em relações de formação de açúcar redutor da hidrólise da solução dos substratos de sacarose (1%), amido solúvel(1%) e carboximetilcelulose (0,5%). Nestes ensaios a quantidade de açúcar redutor foi determinada espectofotometricamente pelo método do DNS a 540 nm (MILLER, 1959) e as atividades foram expressas em U/ 100g de sólidos, sendo U definido pela hidrólise de 1 μmol/min de substrato.

Resultados: O modelo logístico se mostrou adequado para descrever o crescimento celular das três cepas fornecendo fase lag desprezível para cepa ATCC 16404 e tempos de fase lag de 1,7 dias e 0,6 dias para cepas ATCC 1057 e 9029 respectivamente. Também foi observado velocidades específicas máximas de crescimento das cepas ATCC 16404, 1057 e 9029 de, respectivamente, 3,17, 3,59 e 3,21 dia⁻¹, produtividades máximas em celulase, respectivamente, de 487, 177 e 122 U.kg⁻¹.dia⁻¹ , produtividades máximas em invertase, respectivamente, 36, 28 e 9.7 U.kg⁻¹.dia⁻¹ e produtividades máximas em amilase de 31, 17, 22 U.kg⁻¹.dia⁻¹. A produção enzimática das diferentes cepas por um período de sete dias consecutivos mostrou que após o quarto dia há uma queda na produtividade e que a ATCC 16404 se mostrou a mais satisfatório para um período de quatro dias de fermentação.

Conclusão: Para as três linhagens estudadas o crescimento celular pode ser representado de forma satisfatória pelo modelo logístico sendo que a linhagem de Aspergillus níger ATCC 16404 apresentou melhores resultados em relação as enzimas estudadas. Para todas condições estudadas foi observado que a maior produtividade das enzimas invertase, amilase e celulase ocorre após um dia de fermentação e que após quatro dias de processo o aumento na atividade das mesmas se torna desprezível embora o fungo ainda continue a crescer até o sétimo dia da fermentação.

FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA EM REATOR TUBULAR DE ESCOAMENTO ASCENDENTE

Thályta Fraga Pacheco¹, Eloízio Júlio Ribeiro¹

¹Universidade Federal de Uberlândia – Faculdade de Engenharia Química Av. João Naves de Ávila, 2121 – Campus Santa Mônica Uberlândia – MG E-mail: thatafp@gmail.com

Objetivo: O objetivo deste trabalho foi avaliar o comportamento de uma cepa de leveduras com características floculantes utilizando-se, na fermentação alcoólica, um reator de escoamento ascendente não agitado com recirculação externa.

Materiais e Métodos: A levedura utilizada nas fermentações apresentava características floculantes e foi coletada em uma usina de cana-de-açúcar. Os ensaios foram realizados em um reator tubular com recirculação feita por uma bomba peristáltica. A metodologia experimental consistiu de fermentações em batelada com recirculação em um reator tubular de fluxo ascendente nas condições experimentais de concentração de substrato, porcentagem de células no inóculo e vazão de recirculação definidas para cada experimento. Durante as fermentações foram realizadas análises de etanol, concentração celular e sacarose na parte inferior, no meio e na saída do reator. A dosagem de etanol foi feita pelo método espectrofotométrico do dicromato de potássio; a concentração celular foi determinada por espectrofotometria e por determinação de massa seca. Para a análise de consumo de sacarose, fez-se a hidrólise desta e utilizou-se o método enzimático da glicose-oxidase.

Resultados: Neste tipo de reator utilizado nos experimentos, ao contrário do que ocorre normalmente na indústria, a recirculação não tem como objetivo apenas facilitar o controle de temperatura do meio, mas principalmente promover a agitação e causar um escoamento ascendente, que tende a aumentar a eficiência do processo fermentativo, pois melhora o contato das células com o meio. Foram obtidas altas concentrações de etanol depois de consumida toda a sacarose do meio fermentativo. Os experimentos apresentaram uma conversão média de 0,474, equivalente a 92,8% da conversão teórica, que é de 0,511. Este é um excelente rendimento dificilmente conseguido em plantas industriais que operam seguindo os meios convencionais. Outra vantagem observada, além do alto rendimento, é que o tempo de consumo de sacarose, e conseqüente produção de etanol, é menor quando comparado com fermentações usuais.

Conclusão: O uso de um reator de escoamento ascendente em fermentações para produção de etanol apresentou grande potencial técnico, melhorando o rendimento e reduzindo o tempo da fermentação, além da economia energética garantida por essa configuração.

EXTRAÇÃO E DETERMINAÇÃO DE ENZIMAS PRODUZIDAS POR CERIPORIOPSIS SUBVERMISPORA EM CULTIVOS EM ESTADO SÓLIDO SOBRE CASCA DE ARROZ.

<u>Janira Prichula</u>, Angela Machado, Priscila Souza-Cruz, Marco Ayub. Icta – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Av. Bento Gonçalves 9500, CEP 91540-000, Porto Alegre – RS, Brasil.

E-Mail: janirapri@hotmail.com

Objetivo: O presente trabalho tem como objetivo analisar o perfil de enzimas hidrolíticas e oxidativas envolvidas no processo de biodegradação da casca de arroz pelo fungo *Ceriporiopsis subvermispora* (SS3).

Metodologia: Discos de micélio de *C. subvermispora* cultivado em placas (BDA) foram inoculados em erlenmeyers de 1L contendo 200 mL de meio (extrato de malte 20 g/L, extrato de levedura 7 g/L). O cultivo foi incubado em estufa a 30°C por 10 dias e após este período os micélios foram batidos em liquidificador. Erlenmeyers (125 mL) contendo ± 5g de casca de arroz foram inoculados com 1 mL de suspensão de micélio com carga de inóculo correspondente a 500 mg de micélio/kg de casca de arroz. Esse cultivo em estado sólido foi incubado por 3, 6, 9, 12 e 15 dias a 30°C, em triplicata. A extração enzimática foi conduzida com adição de 50 mL de tampão acetato de sódio 100 Mm (pH 5,5) adicionado de 0,01% TWEEN 80, em shaker (250 rpm) por 5 horas a 4°C. Os extratos obtidos após a filtração em filtro de vidro sinterizado e membrana de acetato de celulose (0.45 μM) foram submetidos a ensaios enzimáticos para determinar as atividades de celulases, xilanases, lacases, fenoloxidases totais (FOt), manganês peroxidases e celobiose desidrogenase (CDH).

Resultados: Ao longo do período de cultivo *C. subvermispora* foram detectados a produção de celulase, xilanase, lacase, fenoloxidases totais e celobiose desidrogenase. Não foi detectada atividade de manganês peroxidase durante o experimento. O picos de produção das enzima detectadas estão apresentados na tabela:

ENZIMAS	Celulases	Xilanases	Lacase	FOt	CDH
Dias de cultivo	3	12	15	12	6
Atividade (UI/kg casca de arroz)	1942±171	35287±3772	18±3	27±1	1300±148

Conclusão: Dentro do complexo das enzimas hidrolíticas a xilanase apresentou maior atividade durante todo o período de cultivo (≥ 2500 UI/kg casca de arroz), já dentro do complexo de enzimas oxidativas apenas a CDH apresentou atividade expressiva.

PRODUÇÃO DE AGUARDENTE DE ABACAXI POR FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA

<u>Wagner Rodrigues de Carvalho¹</u>*; Lucas Adonizete Morais Faria¹; Marianny Silva Canedo¹; Luciana Reis Fontinelle Souto¹; Flávio Alves da Silva¹; Manoel Soares Soares Junior¹; Marcio Caliari¹

¹Universidade Federal de Goiás, Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Setor de Tecnologia de Alimentos, Laboratório de Bebidas Campus Samambaia, Rodovia Goiânia-Nova Veneza, Km 0, GOIÂNIA-GO, Brasil, CEP 74.001-970

E-mail: wagrod@hotmail.com

Objetivo: O objetivo do presente trabalho foi utilizar abacaxi em estágio avançado de maturação, já impróprio ao consumo, para a produção de aguardente.

Materiais e Métodos: Extraiu-se a polpa do abacaxi, filtrou-se, acertou-se o grau Brix de 2 L para 5º adicionando água destilada e acrescentou-se 12 g de farelo de trigo, 12 g de fubá de milho e 60 g de fermento biológico seco instantâneo, formando o pé-de-cuba, o qual foi incubado à temperatura ambiente por 24 h. Após, adicionou-se 8 L de polpa ao pé-de-cuba e acertou-se o grau Brix para 15º com a adição de 250 g de sacarose, deixando fermentar por 24 h. Ao final, destilou-se o fermentado, descartou-se 10% da cabeça e analisou-se o coração quanto ao grau alcoólico aparente (GAap), densidade (D), pH, extrato seco (ES), acidez volátil (AV), acidez total titulável (AT) e acidez fixa (AF) seguindo as normas contidas no Manual de Análises de Bebidas e Vinagres do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, em triplicata.

Resultados: Os resultados das análises realizadas são apresentados a seguir:

Análise	GAap	D	pН	ES	AV	AT	AF
	(%)	(g/mL)		(g/L)	(g/100mL álcool anidro)	(g/100mL amostra)	(g/100mL amostra)
Média	39	0,9478	5,12	0,0	0,017	0,021	0,014
DP	<u>±</u> 0	$\pm 0,0001$	$\pm 0,01$	$\pm 0,0$	$\pm 0,001$	$\pm 0,001$	$\pm 0,001$

Conclusão: A aguardente apresentou-se com forte aroma de abacaxi e os resultados obtidos demonstram a viabilidade da produção de aguardente de abacaxi por fermentação alcoólica, uma vez que todos os parâmetros analisados se encontram dentro do exigido pela Legislação Brasileira.

FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA DE BANANA PARA A OBTENÇÃO DE AGUARDENTE AROMATIZADA

Wagner Rodrigues de Carvalho^{1*}; Max Well de Oliveira Rabelo¹; Marianny Silva Canedo¹; Lucas Adonizete de Morais Faria¹; Syd Pereira Faria²; Flávio Alves da Silva¹; Manoel Soares Soares Junior¹ e Márcio Caliari¹ Universidade Federal de Goiás, Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Setor de Tecnologia de Alimentos, Laboratório de Bebidas Campus Samambaia, Rodovia Goiânia-Nova Veneza, Km 0, GOIÂNIA-GO, Brasil, CEP 74.001-970

E-mail: wagrod@hotmail.com

Objetivo: O presente trabalho objetivou o reaproveitamento de bananas impróprias ao consumo devido ao avançado estágio de maturação, para a produção de aguardente aromatizada.

Materiais e Métodos: Pesou-se 500 g de banana e triturou-se em liquidificador com água destilada q.s.p. 2 L, acertando o grau Brix para 5º e adicionou-se 12 g de farelo de trigo, 12 g de fubá de milho e 60 g de fermento biológico seco instantâneo, formando o pé-de-cuba, o qual foi incubado à temperatura ambiente por 24 h. Após, pesou-se 6,5 Kg de banana, triturou-se em liquidificador com 3 L de água destilada e adicionou-se ao pé-de-cuba. O grau Brix foi corrigido para 15º com a adição de 400 g de sacarose e deixou-se fermentar por 24 h. Ao final, destilou-se o fermentado, descartou-se 10% da cabeça e analisou-se o coração quanto ao grau alcoólico aparente (GAap), densidade (D), pH, extrato seco (ES), acidez volátil (AV), acidez total titulável (AT) e acidez fixa (AF) seguindo as normas contidas no Manual de Análises de Bebidas e Vinagres do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, em triplicata.

Resultados: Os resultados das análises realizadas são apresentados a seguir:

Análise	GAap	D	pН	ES	AV	AT	AF
	(%)	(g/mL)		(g/L)	(g/100mL álcool anidro)	(g/100mL amostra)	(g/100mL amostra)
Média	40	0,9454	4,39	0,0	0,272	0,126	0,018
DP	±0	±0,0002	$\pm 0,02$	$\pm 0,0$	$\pm 0,001$	$\pm 0,001$	$\pm 0,001$

Conclusão: Os resultados obtidos demonstram que apesar da elevada acidez volátil, a aguardente de banana produzida satisfaz as exigências da Legislação Brasileira, além de ter apresentado agradável aroma, demonstrando a viabilidade do reaproveitamento da fruta.

UMA NOVA VISÃO SOBRE A DISCIPLINA ANÁLISE, SIMULAÇÃO E CONTROLE DE PROCESSOS PARA OS CURSOS DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS, CIÊNCIA DE ALIMENTOS, ENGENHARIA BIOTECNOLOGICA, E BIOTECNOLOGIA

Wagner André dos Santos Conceição¹, Vandoel Pedro Barbosa Filho¹, Mônica Ronobo Coutinho², <u>José Eduardo Olivo¹</u>, Cid Marcos Gonçalves Andrade^{1*}

¹Universidade Estadual de Maringá–Departamento de Eng. Química Av. Colombo, 5790 – 87020-900, Maringá-PR – Brasil email: cid@deq.uem.br

²Universidade Estadual do Centro-Oeste -Depart. de Eng. de Alimentos Rua Camargo Varela de Sá, 03 - CEP 85040-080-Guarapuava – PR-Brasil

Objetivo: O estágio tecnológico atual é o motivador para o surgimento de cursos relativamente novos, e peculiares, como os de: engenharia de alimentos, ciência de alimentos, engenharia biotecnológica e biotecnologia. Estes cursos foram, em sua maioria, originários de cursos das áreas de engenharia ou de ciências biológicas e agrárias. As origens do curso, normamelmente, tem influência nos conteúdos programáticos da disciplina Análise, Simulação e Controle de Processos. Neste trabalho propomos uma nova visão desta disciplina para estes cursos, tentando colher os lados positivos de cada visão.

Método: Apresentamos as ementas de disciplinas que procuram cobrir o conteúdo programático do que esperamos encontrar na disciplina Análise, Simulação e Controle de Processo, em oito diferentes cursos de diferentes Universidades (sendo dois de cada um, procurando quando possível escolher um oriundo das engenharias e outro oriundo das ciências agrárias e biológicas. **Resultados:** Propomos uma disciplina voltada aos modelos peritinentes ao curso em questão, uso de programas computacionais, intrumentação também pertinente, e abordagem essencialmente no Domínio do Tempo.

Conclusão: Os cursos analisados tem diferentes conteúdos e propósitos, no entanto acreditamos que a inserção da disciplina Análise, Simulação e Controle de Processos onde não está contemplada é importante a despeito das características do curso em questão. Assim como, acreditamos que mesmo onde a disciplina está presente inclusive com forte carga teórica esta teoria deve ser voltada mais as especificidades do curso em questão e ser mais palpável ao aluno, no que nos remete ao eixo principal do trabalho, a necessidade de se trabalhar fundamentalmente no Domínio do Tempo e apenas usar as ferramentas no Domínio da Frequência quando for essencial e houver tempo para isto.

MODELAGEM, SIMULAÇÃO, OTIMIZAÇÃO E CONTROLE DE PROCESSOS FERMENTATIVOS EM BATELADA – ESTADO-DA-ARTE

Wagner André dos Santos Conceição¹, Vandoel Pedro Barbosa Filho¹, Mônica Ronobo Coutinho², <u>José Eduardo Olivo¹</u>, Cid Marcos Gonçalves Andrade^{1*}

¹Universidade Estadual de Maringá–Departamento de Eng. Química Av. Colombo, 5790 – 87020-900, Maringá-PR – Brasil

email: cid@deq.uem.br

²Universidade Estadual do Centro-Oeste -Depart. de Eng. de Alimentos Rua Camargo Varela de Sá, 03 - CEP 85040-080-Guarapuava – PR-Brasil * autor a quem toda correspondência deve ser dirigida

Objetivo: Os processos fermentativos são conhecidos muito anteriormente ao período cristão. Entretanto, a sua modelagem matemática, simulação, otimização e controle são problemas complexos devido às várias peculiaridades inerentes, procuramos, aqui, mostrar o estágio do conhecimento ciêntifico nestas áreas.

Método: Apresentamos aqui um panorama do que já foi ou está sendo investigado em relação aos processos fermentativos em batelada no que se refere a sua modelagem matemática, simulação, otimização e o controle. Por conta da própria característica deste trabalho, em relação espaço físico para explanação principalmente, daremos mais atenção aos trabalhos que estruturam e sintetizam conhecimentos, isto é, os trabalhos de revisão e os livros (preferencialmete os com capítulos específicos) que são fundamentados por artigos cientícos.

Resultados: Os assuntos tratados são altamente relacionados, em muitas investigações científicas foram analisados e implementados, para situações específicas, de forma separada. No entando, pelo o que desenvolvemos aqui dá para perceber que o bom resultado de um processo de fermentação em batelada depende de muitos conhecimentos que vêm de áreas distintas, mas que o sucesso só pode vir com a boa aplicação destas técnicas analisadas e de forma conjunta.

Conclusão: A modelagem, simulação, otimização e controle de processos fermentativos em batelada é um assunto altamente complexo e carente, ainda, de boas abordagens para a resolução de muitos problemas que continuam abertos à espera de boas abordagens.

PHYTASE OPTIMIZATION PRODUCTION BY ASPERGILLUS japonicus IN SUBMERGED FERMENTATION BY PLACKETT-BURMAN AND FACTORIAL ANALYSIS

<u>Alexandre Maller¹</u>; Ricardo F. Alarcon²; André R.L. Damásio¹; Tony M. Silva²; João A. Jorge²; Hector F. Terenzi²; Maria Isabel Rodrigues³ & Maria de Lourdes T.M. Polizeli²

¹Departamento Bioquímica e Imunologia, FMRP, USP; Av. Bandeirantes, 3900, 14049-900 – Ribeirão Preto-SP, Brazil.

²Departamento Biologia, FFCLRP, USP; Av. Bandeirantes, 3900, 14040-901 – Ribeirão Preto-SP, Brazil.

³Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP, SP; R. Monteiro Lobato, 80, 13035-388 – Cidade Universitária - Campinas-SP, Brazil.

E-mail: alemaller@yahoo.com.br

Objective: The aim of this work was select and to optimize the best culture medium for development and production of phytase from *A. japonicus* in submerged fermentation.

Methods: Fungal isolates were obtained from soil of several São Paulo areas, according to Biota program. The fungus was cultivated in several media supplemented with wheat bran by 72 hours at 30°C, in static condition. The assays were carried out with 1% phytic acid in 100 mM sodium acetate buffer, pH 6.0. The inorganic phosphate formed was quantified with acidified ammonium molybdate from a modification of the method described by Yin *et al.* (2007). The Minitab[®] 15.1.0.0 software was used to analysis.

Results: In Plackett-Burman analysis all component concentrations of Czapeck medium were tested, besides carbon source and pH. The variables that presented significant effect on the phytase production were yeast extract, KH₂PO₄, MgSO₄.7H₂O and pH, with alpha 0.1. However, pH was established as 6.0 in the next experiments, because the fungus altered the final pH for approximately 8.0 during the growth. Thereby, yeast extract, potassium phosphate monobasic and magnesium sulfate were tested by factorial analysis of surface response. This analysis showed that only KH₂PO₄ and yeast extract were significant, with alpha 0.05, in both concentrations 0.06%.

Conclusion: So, the best growth medium was Czapeck and among all components tested, only KH₂PO₄ and yeast extract were significant to production in high levels of phytase by *A. japonicus* in fermentation submerged.

Support: FAPESP, CNPq

PRODUÇÃO FERMENTATIVA DE ÁCIDO L-GLUTÂMICO EMPREGRANDO MELAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR PREVIAMENTE HIDROLISADO POR INVERTASE

Mirian Sousdaleff; Heron O. S. Lima e Mirela V. S. Lima.

Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR; Rua Arapongas 95, 87306-230 – Campo Mourão – PR, Brasil.

E-mail: mia_sdff@hotmail.com

Objetivo: O presente trabalho teve por objetivo produzir o aminoácido ácido L-glutâmico, por *Corynebacterium glutamicum*, em fermentação descontínua, por três composições distintas de melaço de cana-de-açúcar, previamente tratados com invertase e suplementados com extrato de levedura e peptona.

Métodos: Foram utilizadas três condições experimentais como meio de cultivo com concentrações de melaço a 5%, 10% e 15% (m/v), previamente hidrolisados por invertase a 2%, com leituras a 510nm para determinação de açúcares redutores resultantes da hidrólise. Os três meios de cultivo foram suplementados com extrato de levedura e peptona e incubados com *Corynebacterium glutamicum* em reator fermentador com pH inicial de 7,2, temperatura de 30°C e sob agitação de 180rpm. Os meios de cultivo foram acompanhados por: (i)determinação de aminoácidos com leituras em comprimento de onda a 570nm; (ii)consumo de açúcares redutores em leituras a 510nm; (iii)crescimento de biomassa a 610nm e (iv)formação de cristais característicos após a fermentação.

Resultados: A melhor produção de aminoácido foi observada pela composição a 10% de melaço como mostrado na tabela abaixo:

	Fermentação		Fermentação		Fermentação Melaço	
Parâmetros	Melaço 5%		Melaço 10%		15%	
	Início	Fim	Início	Fim	Início	Fim
Aminoácidos totais	0,48	5,95	1,80	29,08	3,70	33,53
(g/L)						
Taxa de Produtividade	0,23		0,45		0,32	
Volumétrica (g/L/h)						

Conclusão: A utilização de melaço de cana-de-açúcar a 10% (m/v), como meio de cultivo, suplementado e previamente hidrolisado, pela enzima invertase para obtenção de açúcares redutores a serem consumidos por *Corynebacterium glutamicum*, sugere ser viável para a produção do aminoácido ácido L-glutâmico.

BIOCONVERSÃO DE ISOFLAVONAS COMPOSTOS GLICOSÍDICOS EM AGLICONAS PRESENTES NO MELAÇO DE SOJA POR FERMENTAÇÃO NO ESTADO SÓLIDO UTILIZANDO FUNGOS FILAMENTOSOS

Daniel Mantovani¹; Lúcio Cardozo Filho¹; Gisella M. Zanin¹ and Silvio C. da Costa²

Departamento de Agronomia¹; Departamento de Bioquímica², Universidade Estadual de Maringá; Av. Colombo 5790, 87020-900 – MARINGÁ-PR, Brazil.

Objetivo: Este estudo teve como objetivo principal a produção de β-glicosidase por fermentação semi-sólida usando fungos filamentosos do gênero *Aspergillus niger* ATTCC 16404 e *Aspergillus oryzae* para conversão de compostos flavonóides presentes no melaço de soja.

Métodos: Os fungos dos gêneros Aspergillus niger ATTCC 16404 e Aspergillus oryzae ATCC 1001, foram incubados em estufa a 30°C com 10⁷ esporos/mL em substrato farelo de trigo esterilizado para fermentação semi sólida, durante um período de 72 h para produção de β-glicosidase atividade determinada através do para-nitrofenol-β-glicosídeo (pNPG) a 420 nm. Os valores de proteína foram realizados através da curva padrão em mg/mL, sendo sua absorbância medida a 595 nm. A extração das isoflavonas foi realizada com metanol 80% durante 2 horas com o auxílio de um agitador de barra magnética e a quantificação das isoflavonas foi realizado CLAE (Cromatografia Liquida de Alta Eficiência) utilizando padrões externos de Daidzina, Daidzeína, Genistina e Genisteína. Os resultados foram expressos em isoflavonas (ug 100g⁻¹) de melaço de soja e a maior conversão de isoflavonas glicosidicas em isoflavonas agliconas ocorreu com a incubação da β-glicosidase a 40°C por um período de 30 minutos, proveniente da produção enzimática do Aspergillus oryzae levando a um aumento de 258% na quantidade de Daidzeína e 197% na quantidade de Genisteína em relação ao melaço de soja que não sofreu o processo de incubação.

Conclusão: A β-glicosidase produzida durante a fermentação sólida através dos fungos filamentosos, em contato com compostos glicosídicos foi capaz de formar outras formas de compostos no caso Daidzeína e Genisteína, as quais atuam reduzindo os efeitos antioxidantes além de atuarem na prevenção de câncer e doenças degenerativas.

AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DOS ESPOROS DO FUNGO Clonostachys rosea

Graciele Viccini; David Alexander Mitchell

Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal do Paraná; Av. Francisco H. dos Santos, s/ nº, 81531-990 – Curitiba-PR, Brasil.

E-mail: gracieleviccini@yahoo.com.br

Objetivo: Desenvolver uma formulação para os esporos de *Clonostachys rosea* capaz de mantê-los viáveis e eficazes por mais tempo.

Material e métodos: Foram feitas três fermentações em estado sólido (FES), utilizando arroz como substrato: FES1, FES2 e FES3. Durante a fermentação, os frascos de FES1 e FES2 foram fechados com tampão de algodão e os frascos de FES3, com papel higiênico. Após a fermentação, FES1 foi submetida à secagem branda. O arroz colonizado de cada FES foi submetido a três processos de formulação: no tratamento C não foi aplicado nenhum processo, no tratamento T o arroz foi triturado e no tratamento M o arroz foi triturado e misturado com amido de milho. Cada formulação foi armazenada em duas condições: temperatura ambiente e 4 °C. Os tratamentos foram avaliados por testes de viabilidade e eficácia dos esporos durante 150 dias de armazenamento.

Resultados: A viabilidade dos esporos diminuiu em todos os tratamentos durante o armazenamento. A velocidade de perda foi menor nos tratamentos armazenados a 4 °C. O índice de contaminação foi baixo em FES3 e FES1, mas foi elevado em FES2, devido ao elevado teor de umidade do arroz colonizado. Os tratamentos C e M da FES3, armazenados a 4 °C, apresentaram os melhores resultados, com viabilidade dos esporos superior a 80% após 150 dias. A eficácia dos esporos foi avaliada através do teste de titulação visando determinar o *titer* (menor concentração de esporos de *C. rosea* capaz de reprimir totalmente o crescimento do fungo *Botrytis cinerea* – mofo cinzento) em uma placa. Os resultados deste teste apresentaram boa correlação com os de germinação de esporos.

Conclusão: Na produção de esporos de *C. rosea*, o substrato colonizado pode ser triturado e misturado com amido de milho ou diretamente armazenado. O armazenamento deve ser feito a 4 °C por até 150 dias.

SCREENING TEST PARA IDENTIFICAÇÃO DE FUNGOS COM POTENCIAL MELANOLÍTICO

<u>Katia Luiza Hermann</u>^a, Alessandra Costa^b, Lorena B. B. Tavares^b

E-mail: kahluiza@hotmail.com

Objetivos: Identificar fungos de espécies da Mata Atlântica e de Floresta de Araucária que expressem compostos com atividade melanolítica, empregando como método de avaliação o ágar melanina.

Materiais e Métodos: Cepas de espécies fúngicas, provenientes da Micoteca da Embrapa Florestas, foram cultivadas em placas de Petri contendo um meio preparado a partir da infusão de um substrato composto por serragem de eucalipto, farelo de trigo, carbonato de cálcio e água, na qual foram adicionados dextrose e ágar. Os fungos foram incubados a 25°C ± 1°C, na ausência de luz, durante 7 dias. Para avaliar o potencial melanolítico destes fungos, foram realizados ensaios em placas de Petri contendo meio ágar melanina (AME). Para o preparo deste meio foram misturados dextrose, extrato de malte, sulfato de magnésio heptahidratado, fosfato de potássio monobásico, sulfato ferroso, sulfato de zinco, melanina sintética, ágar e água. As placas foram inoculadas com um disco de 7 mm de diâmetro de micélio fúngico e foram incubadas em estufa BOD sob temperatura controlada de 25°C ± 1°C, na ausência de luz, até completo preenchimento da placa pelo micélio. Durante este período, foi medido diariamente o halo de descoloração da melanina pelo método dos quadrantes.

Resultados: O resultado dos testes da placa de ágar melanina foi avaliado de acordo com a medida da área de despigmentação radial da melanina. Através das medidas do halo de descoloração, verificou-se que 90% das cepas atingiram um halo satisfatório, comprovando o potencial melanolítico destes fungos.

Conclusões: O método aplicado para avaliar a atividade melanolítica dos fungos mostrou-se eficiente, possibilitando verificar que dentre as cepas estudadas a grande maioria apresentou potencial decompositor de melanina sintética. Entretanto, é necessária a realização de mais estudos visando a identificação dos compostos responsáveis por esta ação melanolítica.

^a Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Regional de Blumenau (FURB), Rua São Paulo 3250, 89030-000, Blumenau- SC, Brasil.

^b Departamento de Engenharia Química, FURB.

COMPARAÇÃO DO DESEMPENHO DE REATORES AERÓBIOS NA REDUÇÃO DE DQO DA MANIPUEIRA EM RELAÇÃO À DIMINUIÇÃO DO TEMPO DE AERAÇÃO

Gisele Ferreira Bueno; Vanildo Luiz Del Bianchi

Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas - UNESP, Campus de São José do Rio Preto. Rua Cristóvão Colombo 2265, 15054-000 - São José do Rio Preto-SP, Brasil.

E-mail:gisele.f.b@gmail.com; vanildo@ibilce.unesp.br

Objetivo: Este trabalho objetivou comparar a eficiência de dois reatores aeróbios com lodo ativado em batelada seqüencial, com diferentes tempos de paralisação de aeração.

Materiais e Métodos: Foram utilizados dois reatores aeróbios cilíndricos (relação diâmetro/altura de 1:2,5), com a alimentação em média de 6.000 mg DQO L⁻¹ e com um tempo de corrida de 24 horas, sendo um reator com 8 horas e outro com 16 horas de paralisação da aeração. Foram realizadas as análises de DQO, pH, IVL e A/M.

Resultados: No reator com paralisação da aeração de 8 horas, a redução média da DQO foi de 72,2%. Já o reator com 16 horas a redução média de DQO foi de 76,8%. Os dois reatores apresentaram resultados próximos e a redução da DQO foi acima de 70%. Com relação ao pH, nos dois reatores foram encontrados valores semelhantes, com a entrada oscilando entre 4,0 a 4,9 e a saída de 6,9 a 8,2, sendo observada uma elevação nos valores do pH da saída, com relação à entrada, sem qualquer correção. Nos dois reatores, os valores de IVL em média foram de até 100 mL/g, estando portanto dentro da faixa considerada ótima pela literatura. Já na relação A/M, os valores empregados no reator com 8 horas de paralisação foram, em média, de 0,9 d⁻¹. No ciclo com 16 horas de paralisação, os valores encontrados foram acima do indicado na literatura, com média de 1,1 d⁻¹.

Conclusão: Os dois reatores apresentaram resultados semelhantes tanto na redução de DQO, pH, IVL, quanto à relação A/M. A paralisação escalonada da aeração por até 16 horas, em um tempo de corrida de 24 horas, mostrou ser uma boa ferramenta a ser utilizada no tratamento aeróbio da manipueira.

AVALIAÇÃO DA BIOGÊNESE DO H₂S SOB DIFERENTES RELAÇÕES CARBONO NITRATO.

<u>Sandra M. S. Rocha¹</u>; Ricardo V. Gonçalves¹; Magali C.Cammarota², Vicelma L. Cardoso.

¹Universidade Federal de Uberlândia – Faculdade de Engenharia Química.

Caixa Postal 593 – 38400-902 Uberlândia – MG –

E-mail: ballueng@gmail.com

²Universidade Federal do Rio de Janeiro – Escola de Química, Departamento de Bioquímica21949-900 Rio de Janeiro - RJ.

Objetivo: O objetivo deste trabalho foi a avaliação da biogênese do sulfeto de hidrogênio (H_2S) pela tecnologia da exclusão biocompetitiva sob diferentes relações carbono e nitrato.

Metodologia: Os experimentos foram realizados em reatores de 50 mL tipo frascos de penicilina inoculados com bactérias repicadas de uma cultura mista de bactérias anaeróbias enriquecida com BRS, proveniente da água de produção de Carmópolis—SE. Foi utilizado um efluente sintético, obtido a partir da modificação da composição do meio Postgate E pela substituição do lactato de sódio por ácidos orgânicos (valérico, butírico, propiônico e acético) e supressão do agar-agar, os reatores ficaram sob agitação e à temperatura ambiente durante 28 dias. Foram realizadas análises de concentração de H₂S, nitaro, nitrito e consumo de sulfato.

Resultados: Para maiores relações carbono nitrato ocorreu uma menor produção de sulfeto de hidrogênio. Este resultado pode ser explicado pelo favorecimento da atividade das bactérias redutoras de nitrato (BRN), visto ser o seu metabolismo energeticamente mais favorável do que o consumo de sulfato pelas BRS. A redução microbiana anaeróbica do nitrato fornece 3 vezes mais energia que a redução desassimilativa do sulfato. Mesmo havendo presença de sulfato, o nitrato será preferencialmente consumido, propiciando o domínio das BRN e, conseqüentemente, inibindo o metabolismo das BRS e consequentemente minimizando a produção de sulfeto.

Conclusão: Altas relações carbono nitrato são mais eficientes na inibição das bactérias redutoras de sulfato, e consequentemente minimiza a produção de sulfeto de hidrogênio.

ENSAIOS PRELIMINARES DE REDUÇÃO DE CROMO HEXAVALENTE EM FILTRO BIOLÓGICO DE ESCOAMENTO CONTÍNUO

Maurielem G. Dalcin; Daniela Martins Lelis; Marcelo Pirete; Diego Lemos; Vicelma L. Cardoso; Miriam Maria de Resende.

Universidade Federal de Uberlândia/Faculdade de Engenharia Química Av. João Naves de Ávila, 2121, Campus Santa Mônica - Bloco 1K- 38400-902 – Uberlândia-MG, Brasil

E-mail: maurielem@yahoo.com.br

Objetivo: Avaliar as melhores condições de tempo médio de residência e fonte de carbono no processo de redução do cromo hexavalente.

Métodos: Neste estudo realizaram-se três experimentos com as seguintes condições operacionais conforme Tabela 1.

Tabela 1 – Condições operacionais utilizadas nos experimentos preliminares realizados:

Experimentos	Concentração de Cr (VI) inicial	рН	-	Tempo de residência (h)	
1	(mg/L) 90	7	12	8	Levedura residual
2	90	7	28	24	Levedura residual
3	90	7	30	24	Acetato de sódio

A análise de cromo hexavalente foi realizada segundo método colorimétrico, utilizando difenilcarbazida e comprimento de onda de 540 nm.

Resultados: Nos experimentos 1 e 2 foram verificados valores de redução de cromo hexavalente de 25,00% e 35,41%, respectivamente. Este resultado confirma a influência do tempo de residência na redução de cromo (VI). O experimento 3 que utilizou a fonte de carbono acetato de sódio obteve 70,28% de redução de cromo (VI).

Conclusão: Os experimentos preliminares indicaram um tempo de residência de 24 horas e fonte de carbono acetato de sódio como as melhores condições para a realização de experimentos posteriores.

OTIMIZAÇÃO DA REDUÇÃO DE CROMO HEXAVALENTE EM FILTRO BIOLÓGICO DE FLUXO CONTÍNUO PELO USO DE DCC

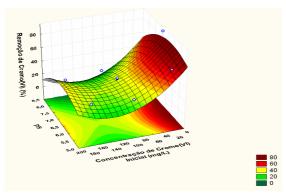
Maurielem G. Dalcin; Daniela Martins Lelis; Marcelo Pirete; Diego Lemos; Vicelma L. Cardoso; Miriam Maria de Resende.

Universidade Federal de Uberlândia/Faculdade de Engenharia Química Av. João Naves de Ávila, 2121, Campus Santa Mônica - Bloco 1K- 38400-902 – Uberlândia-MG, Brasil

E-mail: maurielem@yahoo.com.br

Objetivo: O presente trabalho teve por finalidade definir as melhores condições de operação das variáveis pH e concentração inicial de cromo em um processo de redução de cromo hexavalente.

Métodos: Com o intuito de analisar o processo, foi realizado um DCC (Delineamento Composto Central), considerando como variáveis influentes no processo o pH $(5,5 \le pH \le 8)$ e C_{Cr0} $(15 \le C_{Cr0} \le 165)$ – concentração de cromo inicial, totalizando 11 experimentos. A duração de cada experimento foi de 48 horas e a coleta realizou-se em cinco pontos: topo, meio e fundo do reator, afluente e efluente. Os ensaios foram conduzidos em ordem crescente de concentração para evitar leituras equivocadas de concentração. **Resultados:** A concentração de cromo inicial exerceu grande influência na capacidade de redução do cromo hexavalente pela cultura empregada, entretanto o pH influenciou de maneira discreta na resposta. O ponto ótimo encontrado, ou seja, os valores das variáveis que maximizam a resposta redução do cromo hexavalente foram de pH = 6,26 e C_{Cr0} = 3,94 mg/L.



Conclusão: A análise do DCC mostrou que os maiores valores de remoção estão relacionados com as menores concentrações de cromo inicial e são pouco influenciados pelo pH na faixa estudada.

SCREENING OF WHITE-ROT FUNGI FOR THEIR ABILITIES TO DECOLOURIZE INDUSTRIAL DYES

<u>Giselle M. Maciel</u>; Dayana Laverde; Rosane M. Peralta Biochemistry Department, State University of Maringá; Av. Colombo, 5790, 87020-900 – MARINGÁ-PR, Brazil

E-mail: gisellemariam@gmail.com

Objective: The objective of this work was to select new white rot fungi (WRF) able to produce ligninolytic enzymes and to decolourize industrial dyes.

Methods: WRF were isolated from wood in decomposition using potato-dextrose-agar medium with 0.1% tetracycline and 0.5 g/L Rose Bengal. Dye decolorization was evaluated on malt extract agar (MEA) plates supplemented with 0.05% of Poly R-478, Phenol Red and Remazol Brilliant Blue R (RBBR). Plates with the lignin-model substrate, Poly R-478, were used to screen isolates for the activity of ligninolytic enzymes, Mn peroxidase (MnP) and laccase. Sugarcane bagasse powder-guaiacol (CGA) medium was also used as a plate-test for enzymatic activities. The results were compared with those obtained with two well-known WRF: *Pleurotus sajor-caju* and *Phanerochaete chrysosporium*.

Results: Nine WRF were isolated; however, only seven isolates could decolourize all the dyes. All eleven strains (newly isolated and those from culture collections) produced laccase. Three isolates showed the highest laccase activities (above 0,420 IU/g agar) which were in average 2-fold higher than laccase activity obtained from *P. chrysosporium*. MnP activity was not detected in two isolated strains. These strains were not able to decolourize Poly R-478 and RBBR. Guaiacol was oxidized by all WRF investigated. *P. chrysosporium* fully decolourized and covered the plates of all dyes studied (except CGA medium). However, its enzyme activities were not among the highest activities obtained with the isolates.

Conclusion: Laccase was produced by all isolates. Among nine isolates, seven showed potential to be used in dye decolourization processes. One did not decolourize any dye, although it was a good laccase producer. A correlation was found between MnP activity and Poly R-478 and RBBR decolourization.

PURIFICAÇÃO DE CICLODEXTRINA GLICOSILTRANSFERASE PRODUZIDA POR Bacillus circulans

<u>Vanessa S. Hermes</u>; Cristina Correia; Plinho F. Hertz; Simone H. Flores; Marco A. Z. Ayub

Departamento de Ciência de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; Av. Bento Gonçalves, 9500 – Prédio 43212; 91540-000 – Porto Alegre-RS, Brasil.

E-mail: plinho@ufrgs.br

Objetivo: A ciclodextrina glicosiltransferase (CGTase) pertence à família das α-amilases, sendo a exo-enzima com menor atividade hidrolítica dentro deste grupo. É a única enzima capaz de produzir, através da reação de ciclização, ciclodextrinas (CDs) a partir do amido. Este produto é a base da aplicação industrial da CGTase por possuir a capacidade de encapsular outras moléculas (hidrofóbicas) formando complexos de inclusão. Este trabalho tem por objetivo otimizar as técnicas de purificação por afinidade da CGTase produzida pelo *Bacillus circulans*, comparando com protocolo de referência.

Materiais e Métodos: A enzima foi produzida através de cultivo submerso do bacilo em meio de amido a 37°C por 18 horas. O extrato enzimático foi obtido por centrifugação para eliminação das células. Em banho gelado foi adicionado a esse extrato, amido de milho e sulfato de amônio, provocando a precipitação das enzimas juntamente com o amido insolúvel. Em seguida são realizadas lavagens com solução salina. Ao precipitado obtido é adicionada uma solução de β-ciclodextrina e mantido sob agitação a 40°C por 30 minutos. Por afinidade, a enzima torna-se novamente solúvel e nova centrifugação é realizada para eliminação do amido e o sobrenadante passa por ultrafiltração, obtendo-se a enzima parcialmente purificada.

Resultados: Os parâmetros analisados para avaliação da purificação são: atividade específica, fator de purificação e rendimento. Sendo que foi verificado um aumento de oito vezes na atividade específica e de 6 vezes no fator de purificação, enquanto o rendimento permaneceu em aproximadamente 11%.

Conclusão: Comparando com a técnica realizada anteriormente, obtivemos maior atividade específica e fator de purificação, mantendo o mesmo rendimento. Estes resultados são satisfatórios, pois com a alteração do método foi possível diminuir custos além de melhorar os resultados para os parâmetros analisados. Contudo, mais testes devem ser realizados para validação da técnica.

PURIFICAÇÃO DE C-FICOCIANINA EM LEITO EXPANDIDO EM RESINA DE TROCA IÔNICA STREAMLINE DEAE STREAMLINE QXL

<u>Caroline C. Moraes</u>; Joana C. Ores; Anna Rafaela Braga; Luísa Sala; Jorge A. V. Costa; Susana Juliano Kalil

Escola de Química e Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande, Rua Eng. Alfredo Huch 475, 96201-900 – RIO GRANDE- RS, Brasil.

E-mail: engcarolinemoraes@yahoo.com.br

Objetivo: Purificar C-ficocianina por cromatografia de troca iônica em leito expandido, com resina Streamline DEAE e Streamline QXL, e avaliar qual processo de purificação apresenta maior rendimento, recuperação e frações mais purificadas.

Métodos: Extrato bruto de C-ficocianina foi alimentado em fluxo ascendente, em coluna de leito expandido Streamline 25 contendo 10 cm de resina de troca iônica Streamline DEAE ou Streamline QXL, de modo a promover um grau de expansão de 2 vezes. Após a alimentação, em ambos os experimentos, a coluna foi lavada com tampão fosfato de sódio 0,025 M, pH 6,5, e em seguida foi feita a eluição em gradiente linear salino 0-1 M de NaCl, num volume de 150 mL, em leito fixo e fluxo descendente. Amostras foram coletadas ao longo da eluição e avaliadas quanto à concentração de C-ficocianina e pureza. Calculou-se também o rendimento e a recuperação de cada um dos processos de purificação.

Resultados: Quando a purificação foi feita utilizando a resina Streamline DEAE, as frações contendo C-ficocianina apresentaram uma concentração média de 2,9 mg/mL, pureza de 1,9, rendimento de 40 mg/g e a recuperação do processo foi de 45%. A purificação feita com a resina Streamline QXL apresentou frações com concentração e pureza médias de 2,5 mg/ml e 1,6, respectivamente, e um rendimento de 41 mg/g e recuperação de 64%.

Conclusão: A purificação utilizando a resina Streamline QXL mostrou-se mais interessante uma vez que apresenta valores de concentração e pureza semelhantes ao processo com a Streamline DEAE. Além disso, a recuperação é maior e quando se trata de um produto de alto valor agregado, como C-ficocianina, maiores recuperações representam um processo com menos perdas, portanto menos dispendioso.

Agradecimentos: CAPES, CNPq.

DETERMINAÇÃO DO POTENCIAL INIBITÓRIO E DESTOXIFICAÇÃO DE HIDROLISADO DE BIOMASSA VEGETAL PARA PRODUÇÃO DE BIOPRODUTO

Francislene A. Hasmann^a; Daniela B. Gurpilhares^b; Valéria C. Santos^c; Adalberto Pessoa-Jr^c; Inês C. Roberto^b

^aCentro de Engenharia, Faculdade de Roseira, Rod. Pres. Dutra, km 77, Roseira/SP; ^b Departamento de Biotecnologia, Escola de Engenharia de Lorena, USP, Estrada Municipal do Campinho s/n, Lorena/SP; ^cDepartamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, USP, Cidade Universitária, São Paulo/SP.

Email: francislene@ceavap.com.br

Objetivos: Os objetivos deste trabalho foram: analisar o potencial inibitório do hidrolisado de palha de arroz e, a capacidade de destoxificação do hidrolisado pela extração em sistemas de duas fases aquosas (SAB) usando copolímeros termosseparáveis.

Métodos: Hidrolisado de palha de arroz foi submetido à extração em SAB usando copolímeros termosseparáveis do tipo PPO-PEO (poli-oxido de propileno- poli-óxido de etileno) de 1100 g/mol (A), 2000 g/mol (B) e 2800 g/mol (C) a 20% (v/v) visando remover os compostos inibitórios ao bioprocesso. Como controle foi empregado meio sintético. O bioprocesso foi conduzido empregando *Candida guilliermondii*, em agitador orbital a 30 °C, 200 rpm por 72 horas, tendo o bioprocesso se iniciado com 1 g/L de inóculo. Amostras foram coletadas nos tempos inicial e final do bioprocesso para determinação da concentração celular, açúcares e xilitol para análise da influência da destoxificação na bioprodução de xilitol.

Resultados: O hidrolisado inicial possuía os seguintes compostos inibitórios (em g/L): furfural (0,07), ácido seríngico (0,03), vanilina (0,03), seringaldeído (0,70), ácido ferúlico (0,60) e ácido vanilínico (0,002). O hidrolisado foi submetido a destoxificação por SAB empregando copolímeros termossensíveis com o intuito de se remover os compostos inibitórios. O bioprocesso foi conduzido com hidrolisado destoxificado e meio sintético, decorridas as 72 h no controle a concentração de xilitol analisada foi de 65 g/L e, foi consumida 93% da xilose. Para os meios destoxificados com copolímeiros A, B e C, as concentrações de xilitol atingiram 53 g/L, 48 g/L e 53 g/L, respectivamente. O crescimento celular no controle foi semelhante aos valores citados na literatura. Mas, no hidrolisado destoxificado o crescimento celular foi menos intenso: em média 7 vezes menor que o observado no controle.

Conclusões: O método estudado foi capaz de remover compostos inibitórios presentes no hidrolisado usado na produção de xilitol a qual não foi prejudicada significativamente pela possível presença de resíduos de copolímeros no meio.

Apoio: FAPESP, CAPES, CNPq

PURIFICAÇÃO DE IgG HUMANA UTILIZANDO O-PHOSPHO-SERINA IMOBILIZADA EM GÉIS DE AGAROSE

Igor Tadeu L. Bresolin; Iara R. A. P. Bresolin; Sônia M. A. Bueno Departamento de Processos Biotecnológicos; Faculdade de Engenharia Química; Universidade Estadual de Campinas; Cx. P. 6066, 13083-852; Campinas – SP, e-mail: sonia@feq.unicamp.br

Objetivo: Purificar Imunoglobulina G (IgG) a partir de amostras de soro humano avaliando o efeito de diferentes valores de pH na adsorção de IgG em O-Phospho-Serina (OPS) imobilizada em gel de agarose

Materiais e Métodos: O gel de agarose com OPS imobilizada foi adquirido da Sigma-Aldrich (EUA). Experimentos cromatográficos foram realizados em um sistema de cromatografia de baixa pressão (BioLogic Liquid Chromatography System, Bio-Rad, USA), utilizando-se colunas de vidro formando um leito de 1,0 mL de gel. A eluição foi realizada pela adição de 0,4 M de NaCl no tampão de adsorção. Frações de 1,0 mL foram coletadas durante todo o experimento, quantificadas em termos de proteína total por Bradford e análise nefelométrica, bem como SDS-PAGE.

Resultados: Alimentando-se 1,0 mL de solução de soro humano diluído 20 vezes em tampão fosfato de sódio 25 mM, pH 6,5, recuperou-se cerca de 58% da IgG alimentada, atingindo pureza próxima a 98%.

pH do tampão fosfato	IgG adsorvida (%)	Pureza (%)
6,0	75,6	60,0
6,5	57,7	97,8
7,0	21,5	93,3
7,5	10,9	71,3

As curvas de ruptura obtidas alimentando-se 10,0 e 25,0 mL de solução de soro diluído 20 vezes em tampão fosfato de sódio 25 mM, pH 6,5, mostraram que a IgG (massa molecular de 150 kDa) que permanece adsorvida é recuperada com pureza superior a 90%, tendo como principal contaminante a IgM (massa molecular de 900 kDa).

Conclusões: Maior seletividade e pureza foram obtidas quando se utilizou o tampão fosfato de sódio 25 mM a pH 6,5. Em processos que requerem pureza superior a 98%, uma etapa cromatográfica adicional faz-se necessária para que haja a completa remoção da IgM (por exemplo, exclusão por tamanho).

INTEGRATED PROCESS TO SEPARATE AND PURIFY LACTOSE FROM CHEESE WHEY

Franciele R. B. Turbiani; Rosane R. Souza; Marcelino L. Gimenes Department of Chemical Engineering, Maringá StateUniversity, Colombo Avenue, 5790. ZIP - code: 87.020-900 – Maringá – PR – Brazil

E-mail: barbosafranciele@hotmail.com

Objective: The present work seeks to improve whey processing by microfiltration, ultrafiltration, ion exchange, reverse osmosis, and spraydrying to obtain high-purity lactose, aiming at recovering lactose from whey.

Methods: Acid cheese whey from a local diary company was used as raw material. The cheese whey was first centrifugated to remove suspended particulate matter and then subjected to microfiltration (MF) to remove residual fats. The microfiltered solution was subjected to ultrafiltration (UF) to remove proteins and then the ultrafiltered solution was submitted to ion exchange to remove color and minerals prior to concentration with reverse osmosis. Finally, the concentrated lactose solution was spray-dried to produce fine powder.

Results: The centrifugation of plain whey before the filtration caused a reduction in the fat content around 80%. This stage was shown essential, since the fat globules can cause a fast fouling of the membrane. The percent protein retention in UF stage was about 87%, while that of lactose was 8%. The mixed permeate of UF and UF-DF was subjected to ion exchange treatment. A complete color removal was achieved, and the removal rate of soluble solids was approximately 38% (°Brix). At the same time, the protein retention and lactose retention (or loss) were approximately 88% and 19%, respectively. The centrifugation followed by filtration removed about 13% of COD of raw cheese whey. The MF process removed about 85% of the fat content of the centrifuged whey.

Conclusion: In this work an integrated process was studied to separate and purify lactose from cheese whey. This process yielded a lactose purity of 95.6% (plus 4.2% of galactose/glucose) and an overall recovery rate of 75%. The isolation of lactose will not only reduce the pollution load of the whey permeate easing its disposal to the environment, but it can turn this isolated of lactose into raw material for various applications in food and pharmaceutical industries. In this work, it was possible to reduce the pollution load of the whey (COD) in approximately 96%.

EXTRAÇÃO DA PROTEÍNA SERICINA A PARTIR DOS CASULOS DO BICHO DA SEDA (BOMBYX MORI)

<u>José Tomadon Júnior</u>, Franciele R. B. Turbiani e Willians D. B. Saraiva, Marcelino L. Gimenes.

Departamento de Engenharia Química. Universidade Estadual de Maringá; Av. Colombo 5790, 87020-900 – MARINGÁ – PR, BRASIL.

E-mail: jtomadonjr@hotmail.com

Objetivo: A finalidade deste trabalho é verificar o rendimento de sericina extraída em autoclave variando tempo de processamento e tipos de solventes.

Métodos: Inicialmente, os casulos foram secos na estufa ventilada a 60°C por 24 horas. O solvente e os casulos foram colocados em um cilindro de Teflon envolvido por outro, de aço inoxidável, para evitar vazamentos no interior da autoclave. Os tempos utilizados para extração foram de 20 e 60 minutos, ambos a uma temperatura de 120°C. As soluções utilizadas para a extração foram: água destilada, uréia a 2%, etileno glicol a 2% e cloreto de cálcio a 2%. Após a extração, os casulos foram colocados na estufa a 60°C por 24 horas para secar. O cálculo da porcentagem de sericina extraída se baseou na massa seca dos casulos antes e depois da extração.

Resultados: Os resultados obtidos com as extrações são mostrados na tabela abaixo:

Amostra	Tempo (min)	Solução % de Sericina	
			extraída
1	20	Água Destilada	8,48
2	60	Água Destilada	12.14
3	20	Uréia (2%)	18,07
4	60	Uréia (2%)	20,30
5	20	Etileno Glicol (2%)	8,51
6	60	Etileno Glicol (2%)	13,59
7	20	Cloreto de Cálcio (2%)	9,47
8	60	Cloreto de Cálcio (2%)	15,87

Conclusão: Com base nos resultados apresentados percebe-se que o maior rendimento no processo foi atingido utilizando-se solução de uréia a 2% durante um período de 60 minutos. Refere-se à amostra número quatro, exposta na tabela acima, que apresentou 20,30% de sericina extraída.

PARTIAL CITRIC OR PHOSPHORIC ACID HYDROLYSES FOR THE PRODUCTION OF FOS – FRUCTOOLIGOSACCHARIDES

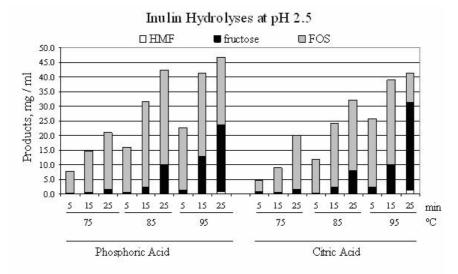
José Domingos Fontana, Adélia Grzybowski, Marcela Tiboni e Mauricio Passos

LQBB – Biomass Chemo/Biotechnology Laboratory; Department of Pharmacy; UFPR – Federal University of Paraná, Curitiba (80210-170), PR, Brazil

E-mail: jfontana@ufpr.br

Objective: Purified inulin (DEAE-cellulose percolation; precipitation with acetone) from Dahlia sp. tubers was partially hydrolyzed with diluted citric or phosphoric acids for the production of FOS – FrutoOligosaccharides (DP 2-18), as functional foods or nutraceuticals for the prevention of colon câncer. **Methods:** The pH of inulin suspensions in distilled water (5-50g%) was adjusted with citric or phosphoric acid to the range of 1.75 to 2.50 and heated to 75-95°C for 5 to 25 minutes. The partially hydrolyzed inulin was analyzed by TLC and HPLC to assess the DP (Degree ofr Polymerization) of the produced FOS – Frutooligosaccharides.

Results: The kinetic parameters variation and the resulting formation of FOS, free fructose and HMF – Hydroxymethyl furfural is summarized in the figure below:



Conclusion: The best FOS – fructooligosaccharide yields were obtained in hydrolyses with pH 2.5 phosphoric acid at 85°C for 25 minutes and with citric acid at 95°C for 15 minutes at the same pH value.

CÁLCULO DAS CONSTANTES DE EQUILÍBRIO ENTRE ALFA E BETA-CICLODEXTRINAS PELA TEORIA DA COMPLEXAÇÃO

Carlos E. Barão; Gisella M. Zanin e Flávio F. de Moraes.

Departamento de Engenharia Química, Universidade Estadual de Maringá; Av. Colombo 5790, 87020-900 – MARINGÁ-PR, Brasil.

Objetivo: O objetivo desse trabalho foi obter as constantes de equilíbrio entre a oleuropeína com a alfa e beta ciclodextrinas pela teoria da complexação, utilizando o corante alaranjado de metila como precursor.

Métodos: Na primeira etapa, foram feitos os procedimentos para a obtenção da constante de equilíbrio entre o Alaranjado de Metila (M.M.: 327,33 g mol¹) e as ciclodextrinas utilizadas (α-CD e β-CD). Esse dado foi utilizado na determinação da constante entre a oleuropeína (M.M: 540,54 g mol¹) e as ciclodextrinas (CDs). Verificou-se que o melhor pH de trabalho foi 3,0; utilizando-se tampão citrato/fosfato dissódico no comprimento de onda de 500nm e usando-se como concentração máxima 0,045 x 10⁻³ mol L⁻¹ de corante nas soluções. Logo em seguida, usando-se os dados obtidos no procedimento de complexação do alaranjado de metila (AM) com as CDs como parâmetro, foram determinadas as constantes de equilíbrio entre a oleuropeína (OLE) e as CDs. Para o cálculo das constantes desenvolveu-se uma equação teórica que permitiu modelar a absorção de uma solução de alaranjado de metila (AM) na presença de OLE e as CDs, assumindo-se a formação de dois complexos distintos do tipo 1:1, um apenas com o AM e a CD, e outro apenas com a OLE e a CD.

Resultados: Os resultados obtidos para as constantes são mostrados na tabela:

Ciclodextrina	Alaranjado de metila	Oleuropeína
Alfa-CD	$K_1 = 4557,2 \text{ M}^{-1}$	$K_2 = 1352,4 \text{ M}^{-1}$
Beta-CD	$K_1 = 952,00 \text{ M}^{-1}$	$K_2 = 1827,9 \text{ M}^{-1}$

Conclusão: Observou-se que devido à menor cavidade, a α-CD pode acomodar de forma mais congruente a molécula do corante, em contraste com a maior cavidade da β-CD. Esse fato também justifica a maior afinidade entre a β-CD com a oleuropeína, uma vez que a mesma possui uma cavidade maior na qual a OLE se ajusta de forma mais perfeita. Os dados mostraram-se consistentes e pela Teoria da Complexação pode-se obter um ajuste de qualidade superior (isto é, coeficiente de correlação maior que 0,99), bem como trabalhar com uma faixa de concentração mais ampla, podendo ser empregado para qualquer substância passível de inclusão molecular com as ciclodextrinas.

Agradecimentos: Os autores agradecem a CAPES, ao CNPq e à Fundação Araucária.

ESTUDO DA COMPLEXAÇÃO DA ENROFLOXACINA COM CICLODEXTRINAS

<u>Luiza P. V. Calsavara</u>; Taís W. Sereza; Gisella M. Zanin e Flávio F. de Moraes

Departamento de Engenharia Química, Universidade Estadual de Maringá, Avenida Colombo, 5790 - BL D-90, 87020-900 - MARINGÁ, PR E-mail: luiza@deq.uem.br

Objetivo: A Enrofloxacina é um antibiótico de uso veterinário e sabor amargo. Com o objetivo de aumentar a solubilidade do fármaco e reduzir o seu amargor, a formação de complexos de inclusão com ciclodextrinas foi testada. Utilizou-se ainda, o ácido cítrico como agente solubilizante.

Métodos: Medidas de solubilidade foram conduzidas de acordo com o método de Higuchi e Connors, usando diagramas de solubilidade para obtenção de informações sobre a formação de complexos de inclusão, assim como a proporção molar hóspede/hospedeiro do complexo formado. As ciclodextrinas testadas como agentes complexantes da Enrofloxacina foram: alfa, beta, gama e hidroxipropil-beta-CD.

Resultados:

Constante de estabilidade dos complexos (K) obtidos e número de vezes que a solubilidade aumenta com a adição da ciclodextrina (n):

	Concentração	Enrofloxacina		
CD	Máxima de CD (mM	Dissolvida (mM)	$K(M^{-1})$	n
Alfa	124,28	1,4260	19,05	3,3
Beta	15,86	0,6601	24,8	1,4
Gama	160,00	1,3431	13,38	3,1
HP-Beta	180,21	1,6970	17,52	4,2

Conclusão: As constantes de estabilidade dos complexos apresentaram valores baixos, indicando reduzida estabilidade dos complexos. O melhor resultado foi conseguido com a beta-CD, que além de apresentar o maior valor para a constante de estabilidade (K = 24,8 M⁻¹), apresentou um maior aumento na solubilidade da Enrofloxacina (n=1,4) em relação à quantidade de ciclodextrina oferecida. Nos ensaios de solubilidade da Enrofloxacina à temperatura ambiente, com a utilização de ácido cítrico, visando aumentar a solubilidade do fármaco, observou-se que uma solução de 15 mM deste ácido dissolveu toda a Enrofloxacina oferecida (0,1000g/10mL), com pH em torno de 5,0.

FORMAÇÃO DO COMPLEXO DE INCLUSÃO ENTRE LINALOL E CICLODEXTRINAS

Priscila Bonetti; Gisella M. Zanin; Rita C. Bergamasco.

Departamento de Engenharia Química, Universidade Estadual de Maringá; Av. Colombo, 5790, 87020-900 – Maringá-PR, Brasil.

E-mail: pribonetti@yahoo.com.br.

Objetivo: O objetivo deste trabalho foi complexar linalol, uma substância usada como fixador de perfumes e fracamente solúvel em água, com as ciclodextrinas β -ciclodextrina, γ -ciclodextrina e hidroxipropil- β -ciclodextrina.

Métodos: Os complexos de inclusão foram preparados pelo método de coprecipitação, nas proporções molares de 1:1 e 1:2 (linalol:ciclodextrina), e caracterizados por Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR), Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Prótons (RMN-H¹), Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC), Termogravimetria (TGA) e Termogravimetria Derivativa (DTG). A constante de estabilidade dos complexos de inclusão foi determinada pelo diagrama de solubilidade de fases.

Resultados: As constantes de estabilidade calculadas para os sistemas linalol/β-CD, linalol/γ-CD e linalol/HPβ-CD foram, respectivamente, 281,96 M⁻¹; 423,61 M⁻¹ e 286,97 M⁻¹. As técnicas de Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR), Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Prótons (RMN-H¹), Calorimetria de Termogravimetria Diferencial Varredura (DSC), Termogravimetria Derivativa (DTG) confirmaram a formação de complexo de inclusão entre linalol e CDs, sendo que os melhores resultados foram observados para o sistema linalol/β-CD, na proporção molar de preparação de 1:1 (linalol:CD). A análise de decomposição térmica permitiu presumir que o processo de decomposição da β-CD, da γ-CD, da HPβ-CD e de seus respectivos complexos são reações simples de primeira ordem.

Conclusão: Portanto, pode-se concluir que as ciclodextrinas analisadas podem ser utilizadas para a encapsulação do linalol. Os melhores resultados obtidos envolveram a utilização da β -CD na proporção molar de preparação de 1:1 (linalol:CD). Além disso, também devemos levar em consideração que a β -CD apresenta a vantagem de ser a ciclodextrina com menor valor de venda no mercado.

PRODUÇÃO DE 5-HIDROXIMETILFURFURAL A PARTIR DE FRUTOSE E GLICOSE

Príscila Marques de Siqueira^{1,2*}; Juliana Ferreira Gonçalves²; Elaine Lima dos Anjos²; Leonardo Peixoto Costa¹; Edélvio Gomes²; Nei Pereira Jr²

¹Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro (IFRJ) – Rua Lucio Tavares, 1045 – Centro – Nilópolis – RJ – Brasil

²Departamento de Engenharia Bioquímica, Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ); Av. Athos da Silveira Ramos, 149 – Bloco E – Centro de Tecnologia – Rio de Janeiro – RJ – Brasil

E-mail: primarquesiq@yahoo.com.br

Objetivos: Obtenção de HMF a partir de monossacarídeos (frutose e glicose) utilizando baixa temperatura e concentrações relativamente altas de catalisador, neste caso, ácido sulfúrico.

Materiais e métodos: Foram realizados dois planejamentos, um para frutose e outro para glicose, nas mesmas condições experimentais. As variáveis testadas foram: concentração de ácido sulfúrico, concentração inicial de açúcar e tempo reacional. O tratamento dos dados foi feito através do programa Statistica, utilizando um Delineamento Composto Central Rotacional 2³ com seis réplicas do ponto central. As concentrações de açúcares foram obtidas através de uma série de diluições a partir de uma solução-mãe de 200 g/L. O ácido sulfúrico foi adicionado nas concentrações determinadas pela condição experimental. As reações de desidratação foram realizadas em erlenmeyers colocados em autoclave a temperatura constante e igual a 121°C.

Resultados: Usando essas condições reacionais para cada monossacarídeo, o maior rendimento em HMF foi de 45,2% e 2,1% para a desidratação de frutose e glicose, respectivamente. Além disso, é possível observar que a concentração de ácido não interferiu no rendimento, na temperatura testada, nas reações utilizando glicose. Entretanto, é nítido que para se alcançar maiores rendimentos, os tempos reacionais devem ser aumentados. Esse efeito do tempo é oposto para os experimentos com frutose, ou seja, maiores rendimentos em menores tempos reacionais. Adicionalmente, a concentração de ácido já aparece como um fator a ser reduzido para que se alcance maiores rendimentos.

Conclusão: Os experimentos com frutose precisam de menores concentrações de catalisador (ácido sulfúrico), tempos reacionais mais baixos e com altas concentrações de açúcar. Já para a glicose o ideal seria realizar um novo planejamento em temperaturas maiores.

CARACTERIZAÇÃO DE FILMES DE GELATINA/QUITOSANA MODIFICADOS COM GENIPINA POR MEIO DE TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS.

Edson M. Yajima¹; Flávio Faria de Moraes¹, Osvaldo C. Albuquerque² e Gisella M. Zanin¹

¹Departamento de Engenharia Química, ²Departamento de Farmácia e Farmacologia, Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo 5790, 87020-900 – MARINGÁ-PR, Brasil.

E-mail: edson_yajima@hotmail.com

Objetivo: Este trabalho teve como objetivo o estudo da reticulação da gelatina, quitosana e suas associações com genipina, por meio de técnicas de espectroscopia na região do infravermelho e UV/Visível.

Materiais e Métodos: Filmes produzidos com gelatina e quitosana nas proporções 0:100, 75:25, 50:50, 25:75 e 0:100 respectivamente, foram preparados pelo processo de evaporação em placa de Petri. As dispersões aquosas (2%m/v) foram reticuladas com a adição de genipina (1%m/m). Os filmes foram caracterizados por espectroscopia na região do infravermelho via técnica de reflectância total atenuada (FTIR-ATR) e na região do UV/Visível, via espectroscopia fotoacústica (PAS-UV/Vis).

Resultados e Discussão: Os filmes reticulados apresentaram coloração azul intensa, característica do produto da reação da genipina com compostos contendo aminas primárias. Os espectros na região do UV/Visível apresentaram destacada banda de absorção próxima a 600nm para todos os filmes reticulados com genipina, contudo não foi observado qualquer pico de absorção neste mesmo comprimento de onda nos filmes não reticulados. Os resultados indicaram que filmes contendo somente gelatina apresentaram maior grau de reticulação, comparados aos demais filmes contendo somente quitosana ou mistura desta com gelatina. Os espectros obtidos na região do Infravermelho dos filmes modificados com genipina não apresentaram alterações na intensidade de absorção, assim como não foi possível detectar a adição ou eliminação de bandas de absorção, se comparados aos espectros dos filmes de mesma composição sem a reticulação.

Conclusão: A espectroscopia na região UV/Visível, mostrou-se mais eficiente em identificar diferenças no grau de reticulação dos filmes, comparada à técnica FTIR-ATR. Os resultados mostraram ainda que, a gelatina apresentou maior grau de reticulação comparado às demais composições filmogênicas avaliadas.

FILMES COMESTÍVEIS DE ALGINATO DE SÓDIO RETICULADOS COM ÍONS CA²⁺ CONTENDO AGENTE ANTIMICROBIANO

Franciele R. B. Turbiani; Marcelino L. Gimenes

Departamento de Engenharia Química, Universidade Estadual de Maringá;

Av. Colombo 5790, CEP: 87020-900 – MARINGÁ-PR-Brasil.

E-mail: barbosafranciele@hotmail.com

Objetivo: O objetivo deste trabalho foi sintetizar filmes à base de alginato de sódio, avaliar o aumento do grau de reticulação da matriz polimérica, e investigar o uso de benzoato de cálcio como agente ativo (íons benzoato) e como auxiliar na reticulação (íons cálcio).

Métodos: Os filmes foram confeccionados à base de alginato de sódio usando cloreto de cálcio como agente reticulante e glicerol como plastificante. Devido ao alto poder gelificante do Ca⁺⁺, confeccionou-se, inicialmente, um filme de baixa reticulação a partir de soluções filmogênicas contendo até 1,26.10⁻³ % de Ca⁺⁺ (m/v) no 1º estágio. Esse filme sofreu uma reticulação complementar com excesso de Ca⁺⁺ (2º estágio) pela imersão em solução contendo de 3 a 7% de CaCl₂ no 2º estágio.

Resultados: O aumento da concentração de glicerol na solução filmogênica melhora a manuseabilidade e plasticidade dos filmes, porém aumenta a solubilidade em água e o conteúdo de umidade dos mesmos e um adequado compromisso foi obtido usando 5% desse plastificante. Ensaios nos quais o CaCl₂ foi substituído, total ou parcialmente, por benzoato de cálcio indicou que o mesmo não pode ser usado na solução do 2° estágio por favorecer a precipitação de cristais sobre o filme. Filmes ativos de 0,06 mm de espessura, pré-reticulados apenas com benzoato de cálcio e 0,7% de glicerol na solução do 1° estágio e imersos por 30 minutos em banho contendo 3% de CaCl₂ e 5% de glicerol no 2° estágio, apresentaram baixa solubilidade em água (até 20% da matéria seca). Estes filmes têm baixo grau de intumescimento (< 50% da massa inicial), boa resistência mecânica à tração, mas baixa elasticidade. A permeabilidade ao vapor de água é moderada e os valores encontrados são típicos de biofilmes hidrofílicos, da ordem de 4,4 g.mm/m².dia.kPa.

Conclusão: O benzoato adicionado no 1° estágio tem ação plastificante e apresenta menor eficiência como agente reticulador, se comparado ao CaCl₂. O uso de benzoato de cálcio como fonte de Ca⁺⁺ no 1° estágio permite a adição mais rápida de reticulante e com concentrações mais altas de cálcio e, conseqüentemente, alcançar maior grau de pré-reticulação.

IX Simpósio de Hidrólise Enzimática de Biomassas; Maringá, 23 a 27, novembro, 2009

APOIO:





