ISSN 2595-5489

V Encontro de Pesquisa e Inovação da Embrapa Agroenergia

Anais

Simone Mendonça
Hugo Bruno Correa Molinari
Editores técnicos

Brasília, DF
2018

Embrapa

ISSN 2595-5489

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Agroenergia
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

V Encontro de Pesquisa e Inovação Embrapa Agroenergia

Anais

Simone Mendonça
Hugo Bruno Correa Molinari
Editores técnicos

Embrapa
Brasília, DF
2018

Embrapa Agroenergia
Parque Estação Biológica, PqEB s/n, Av. W3 Norte (final), Brasília, DF
CEP: 70770-901
Fone: (61) 3448-4246
Fax: (61) 3448-1589
www.embrapa.br
www.embrapa.br/fale-conosco/sac/

Unidade responsável pelo conteúdo e pela edição
Embrapa Agroenergia

Comitê Local de Publicações

Presidente
Alexandre Alonso Alves

Secretária-executiva
Lorena Costa Garcia Calsing

Membros
Adilson Kenji Kobayashi
André Pereira Leão
Dasciana de Sousa Rodrigues
Emerson Léo Schultz
Felipe Brandão de Paiva Carvalho
Maria Iara Pereira Machado
Thaís Fabiana Chan Salum
Wesley Gabriel de Oliveira Leal

Supervisão editorial e revisão de texto:
Luciane Chedid Melo Borges

Normalização bibliográfica:
Maria Iara Pereira Machado

Projeto gráfico e editoração eletrônica:
Maria Goreti Braga dos Santos

Arte da capa:
Leandro Santos Lobo

Comitê Técnico-Científico do V EnPI

Presidente
Hugo Bruno Molinari

Membros
Adilson Kenji Kobayashi
André Leão
Bárbara Andrade Dias Brito da Cunha
Betania Ferraz Quirino
Bruno Laviola
César Heraclides Behling Miranda
Emerson Léo Schultz
Félix Gonçalves de Siqueira
Letícia Jungmann Cançado
Leonardo Valadares
Lorena Costa Garcia Calsing
Manoel Teixeira Souza Júnior
Patrícia Abrão Oliveira Molinari
Sílvia Belém Gonçalves
Simone Mendonça

1ª edição
Publicação digitalizada (2018)

Todos os direitos reservados.
A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Embrapa Agroenergia

Encontro de Pesquisa e Inovação da Embrapa Agroenergia (*5. : 2018 : Brasília, DF*).

Anais do 5º Encontro de Pesquisa e Inovação da Embrapa Agroenergia, Brasília, DF, 9 a 10 de outubro de 2018 / Simone Mendonça, Hugo Bruno Correa Molinari, editores técnicos. – Brasília, DF : Embrapa Agroenergia, 2018.

PDF (64 p.) – (Encontro de Pesquisa e Inovação da Embrapa Agroenergia, ISSN 2595-5489 ; 5)

1. Agroenergia – pesquisa – inovação. I. Título. II. Série.

CDD (22 ed.) 333.79

© Embrapa, 2018

Apresentação

Neste ano de 2018, estamos realizando o V Encontro de Pesquisa e Inovação da Embrapa Agroenergia. Nos anos anteriores, realizamos o encontro tratando de temáticas como a Química Verde e a Biotecnologia Industrial e, neste ano, trataremos da temática de maior destaque para a bioeconomia nacional. Trata-se do tema Biomassas para a Bioenergia. Como nos anos anteriores, além da apresentação dos trabalhos desenvolvidos pelos colaboradores e pesquisadores da Embrapa Agroenergia, teremos também o Simpósio Agroenergia em Foco, no qual especialistas da academia, da indústria e do governo discutirão o tema da biomassa com um enfoque industrial, científico e de políticas públicas.

As biomassas a serem utilizadas no contexto bioeconômico deverão estar disponíveis em volume e em localizações estratégicas para que a indústria de base biológica possa utilizá-las na produção de inúmeros produtos em substituição aos de origem fóssil. Dessa forma, nossos pesquisadores e seus parceiros têm se preocupado em introduzir nessas biomassas, por meio de melhoramento genético clássico e assistido por biotecnologias, características que permitam à indústria explorar a biomassa no máximo do seu potencial. Aumento de produtividade de óleo, de resíduos lignocelulósicos, alteração na estrutura da parede celular, tornando-a menos recalcitrante aos pré-tratamentos hoje existentes, resistência a estresses bióticos e abióticos, como pragas e estresse hídrico, entre outras, são algumas das características que estamos tentando agregar a diferentes biomassas, buscando torná-las mais economicamente e ambientalmente sustentáveis. É importante salientar, também, que a biomassa e os resíduos e efluentes de sua transformação se constituem em importantes matérias-primas para a produção de inúmeros produtos de valor agregado.

Temos a expectativa de que os trabalhos desenvolvidos pela nossa equipe de pesquisa juntamente com nossos parceiros tragam alternativas de ganhos ao setor agroindustrial pela exploração da biomassa no máximo de seu potencial, contando principalmente com o desenvolvimento científico que nos dará independência tecnológica. Por fim, esperamos que o conhecimento aqui gerado possa ajudar ao Brasil a se tornar umas das lideranças mundiais na bioeconomia.

Esperamos que os trabalhos apresentados nestes Anais do V Encontro de Pesquisa e Inovação sirvam de base para divulgarmos nossos avanços, assim como permitir uma maior aproximação com todos os atores envolvidos com a agregação de valor a biomassas, resíduos e efluentes em um contexto de economia circular.

Guy de Capdeville

Chefe-Geral da Embrapa Agroenergia

O Encontro de Pesquisa e Inovação da Embrapa Agroenergia

Organização

Chefia-adjunta de Pesquisa e Desenvolvimento (CPD) e Núcleo de Apoio à Programação (NAP), com o apoio do Comitê Local de Publicações (CLP), Comitê Local de Propriedade Intelectual (CLPI), Núcleo de Comunicação Organizacional (NCO), Setor de Infraestrutura e Logística (SIL) e Setor de Implementação da Programação de Transferência de Tecnologia (SIPT).

Objetivos

I) Debater e avaliar o cenário externo à Embrapa no que diz respeito à biotecnologia aplicada à biomassa, prospectando avanços e oportunidades que ajudem a contornar/mitigar as mudanças climáticas.

II) Debater políticas públicas e novos focos de PD&I para o tema biotecnologia.

III) Produzir documento síntese das discussões apontando prioridades para a pesquisa na área.

IV) Divulgar os trabalhos de PD&I desenvolvidos na Embrapa Agroenergia nas áreas de Biomassa para uso industrial, Biotecnologia industrial e Química de renováveis e materiais.

V) Premiar os melhores talentos nas categorias de graduandos, pós-graduandos e profissionais.

Formato

O EnPI 2018 foi realizado no período de 9 a 10 de outubro, na Confederação Nacional da Agricultura e Pecuária do Brasil (CNA), com auditório com capacidade para 310 pessoas sentadas. A quinta edição do Encontro de Pesquisa e Inovação da Embrapa Agroenergia (EnPI 2018) contou com a presença de 19 palestrantes convidados, internos e externos ao quadro da Embrapa Agroenergia. Este ano, o tema abordado no Simpósio Agroenergia em Foco (espaço para debates dentro do evento) foi a **Biomassa para a Bioeconomia**, sendo aberto ao público externo, i. e. outras unidades de pesquisa da Embrapa, universidades e institutos de pesquisa e inovação, servidores públicos ligados à formulação de políticas públicas, setor industrial e associações de empresas. Foi também apresentada a Vitrine Tecnológica de processos e produtos tecnológicos desenvolvidos pela Embrapa Agroenergia e instituições parceiras e que estão disponíveis para transferência para o setor produtivo e industrial (www.embrapa.br/agroenergia/vitrine).

O evento foi subdividido em dois momentos:

I) Simpósio Agroenergia em Foco “Biomassa para a Bioeconomia”, com quatro mesas-redondas, que abordaram os temas “Políticas Globais para Biocombustíveis Frente às Demandas por Sustentabilidade”, “Bioprodutos a partir da Biomassa no Conceito de Biorrefinaria”, “Biotecnologia para Aumento da Produção e Enfrentamento das Mudanças Climáticas”, “Biomassa para Bioenergia, Visão do Setor Produtivo”.

II) Sessão de divulgação dos trabalhos científicos do V EnPI, que contou com apresentações em formato de pôster de trabalhos submetidos em forma de resumo, além da premiação dos melhores trabalhos de PD&I desenvolvidos nas grandes áreas:

1) Biomassa para uso industrial;
2) Biotecnologia industrial;
3) Química de Renováveis e Materiais.

A sessão de trabalhos teve uma inovação este ano: a submissão de trabalhos realizados fora da Embrapa Agroenergia, mas em parceria com a mesma.

Público-alvo

O público-alvo do V Encontro de Pesquisa e Inovação da Embrapa Agroenergia são pesquisadores, professores, estudantes de pós-graduação e graduação envolvidos em pesquisas relacionadas à produção de Agroenergia, em especial nos temas bioeconomia, química, biotecnologia, nanotecnologia e áreas correlatas. No Distrito Federal, portanto, esse público engloba profissionais e estudantes vinculados às unidades de pesquisa da Embrapa (Embrapa Agroenergia, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Embrapa Hortaliças, Embrapa Cerrados, Embrapa Sede) e universidades como a Universidade de Brasília, Universidade Católica de Brasília e outras com as quais a Embrapa mantém parcerias formalizadas. Outras universidades do Brasil também participaram enviando trabalhos e/ou participantes, alunos e professores.

Os setores públicos, agentes reguladores e agentes de fomento estão igualmente contemplados no público-alvo, uma vez que as discussões e documentos produzidos durante o encontro podem servir como norteadores para a formulação de ações governamentais nos âmbitos distrital e federal. Esse número não considera, no entanto, aquelas pessoas que acompanharam o evento por meio da ferramenta online. As palestras do EnPI 2018 foram transmitidas nas mídias sociais da empresa. O canal do Youtube da Embrapa tem hoje 20.048 inscritos, tendo tido 2.432.448 de visualizações desde 2013 (www.youtube.com/user/videosEmbrapa/featured).

Sumário

BIOMASSA PARA USO INDUSTRIAL 10

Leveduras não-*Saccharomyces* tolerantes a diferentes compostos químicos de hidrolisado lignocelulósico 11

Carlos Emanoel Vieira Flores Soares, João Ricardo Moreira de Almeida

Produção de biomassa algal: Uma abordagem econômica e bioquímica integrada 12

Dágon Manoel Ribeiro, Lorena Costa Garcia Calsing, Letícia Jungmann Cançado, Thomas Christopher Rhys Williams, Luiz Fernando Roncaratti, Bruno dos Santos Alves Figueiredo Brasil

Determinação do metabolismo de *Chlorella sorokiniana* em vinhaça sob diferentes condições de cultivo 13

Hugo Santana, Carolina Ribero Cereijo, Patrícia Portela de Medeiros Brunale, Sámed Ibrahim Isa Abdel Hadi, Letícia Jungmann Cançado, Bruno dos Santos Alves Figueiredo Brasil

Nova metodologia para determinação de acidez em óleo de dendê híbrido 14

Marina Borges Guimarães, Diogo Keiji Nakai, Thais Fabiana Chan Salum, José Antonio de Aquino Ribeiro, Simone Mendonça

Metabolômica *untargeted* por UHPLC-MS em processos pré-tratamento biológico de torta de pinhão-manso por macrobasidiomicetos 15

Miriã de Almeida Souza, Marina Borges Guimarães, José Antônio de Aquino Ribeiro, Jorge Candido Rodrigues Neto, Simone Mendonca, Félix Gonçalves de Siqueira, Patrícia Verardi Abdelnur

Caracterização, pré-tratamento hidrotérmico, hidrólise enzimática e fermentação do bagaço de malte 16

Nicole Ribeiro Maione, Thályta Fraga Pacheco, Dasciana de Sousa Rodrigues, Carlos Alberto Galeano Suarez, Inti Doraci Cavalcanti Montano

Produção de polióis por fungos filamentosos cultivados em glicerina bruta sob diferentes condições de luz 17

Samira Costa Braga, Elias Alves da Silva, Vivianny Nayse Belo Silva,Thaís Fabiana Chan Salum, Sílvia Belém Gonçalves

Expressão diferencial de genes em *Pleurotus pulmonarius* associados a degradação enzimática e destoxificação da torta de pinhão-manso 18

Taísa Godoy Gomes, Gabriel Sergio Costa Alves, Sámed Ibrahim Isa Abdel Hadi, Marcos Mota do Carmo Costa, Simone Mendonça[5], Robert Neil Gerard Miller[6], Félix Gonçalves de Siqueira[7]

Análise morfofisiológica de *Portulaca olerecea* L. submetidos a estresse salino 19

Thalita Massaro Malheiros Ferreira, Vivianny Nayse Belo Silva, Manoel Teixeira Souza Júnior, Carlos Antônio Ferreira de Sousa

Atividade antioxidante de extrato fluido a partir de resíduos de oleaginosas 20

Andréa Samara da Silva Moraes, Bruno Leite Sampaio, Olga Costa Alves Souza, Raquel Bombarda Campanha, Patrícia Abrão de Oliveira Molinari, Lívia Cristina Lira de Sá Barreto, Simone Mendonça

Sinais fracos para tendências emergentes na pesquisa científica associada à agricultura biossalina 21

Cecília Lima Lopes, Melissa Braga, Manoel Teixeira Souza Júnior

Avaliação da estabilidade oxidativa do biodiesel na presença de extratos 22

Vanessa Alvim Alves, Andrea Samara da Silva Moraes, Simone Mendonça, Patrícia Abrão Oliveira Molinari, Itânia Pinheiro Soares

BIOTECNOLOGIA INDUSTRIAL 23

BAHD5 – Novo gene-alvo para aumento de sacarose em gramíneas 24

Bruno Leite Sampaio, Karoline Estefani Duarte, Wagner Rodrigo de Souza, Felipe Vinecky, Henrique de Oliveira Amaral, Daniel Nogoceke Sifuentes, Bárbara Andrade Dias Brito da Cunha, Adilson Kenji Kobayashi, Patrícia Abrão de Oliveira Molinari, Hugo Bruno Correa Molinari

Avaliação da atividade da LPMO Cel61A de *Trichoderma reesei* sobre celulose por espectrometria de massas 25

Caio de Oliveira Gorgulho Silva, Tallyta Santos Teixeira, José Antônio de Aquino Ribeiro, Kelly Barreto Rodrigues, Gisele Soares Anastácio, Amanda Araújo Souza, Thais Demarchi Mendes, Thais Fabiana Chan Salum; Léia Cecilia de Lima Fávaro, Patrícia Verardi Abdelnur

Padronização de microensaio para dosagem de atividade xilanolítica 26

Helder Andrey Rocha Gomes, Daiana Wischral, Thályta Fraga Pacheco, Thais Demarchi Mendes, Thais Fabiana Chan Salum, Sílvia Belem Gonçalves, Mônica Caramez Triches Damaso

Seleção e identificação de nova linhagem de levedura não-*Saccharomyces* tolerante ao hidrolisado lignocelulósico de cana-de-açúcar para produção de xilitol 27

Wilson Galvão de Morais Júnior, Thályta Fraga Pacheco, Débora Trichez, João Ricardo M. Almeida, Sílvia Belém Gonçalves

Uso de lipases bacterianas para a síntese de biodiesel etílico 28

Pedro Alves Martins, Thályta Fraga Pacheco, Diogo Keiji Nakai, Janice Lisboa de Marco, Thaís Fabiana Chan Salum

Análise de fluxo metabólico de leveduras fermentadoras de xilose para validação do metaboloma intracelular 29

Henrique César Teixeira Veras, Christiane Campos Gonçalves, Igor Ferreira Nascimento, Patrícia Verardi Abdelnur, João Ricardo Moreira de Almeida, Nádia Skorupa Parachin

Fungos filamentosos como agentes promissores da degradação de biossólidos 30

Solange Xavier dos Santos, Laiza Rosa Naves das Mercês, Lucas Leonardo da Silva, Élida Lúcia da Cunha, Verediana Fiorentin Rosa de Almeida, Brenda Letícia Sena,Izabel Cristina Moreira, Antônio Sérgio Ferreira de Sá, Félix Gonçalves de Siqueira

Divergence of DNA methylation and gene expression in *Setaria viridis* accessions under drought stress 31

Thaís Ribeiro Santiago, Karoline Estefani Duarte, Wagner Rodrigo de Souza, Andrei Stecca Steindorff, Eduardo Fernandes Formighieri, Adilson Kenji Kobayashi, Hugo Bruno Correa Molinari

Enhancement of ligninolytic enzyme activities in an *Aspergillus terreus* co-culture with macrofungi 32

Aparecido Almeida Conceição, Elias Alves da Silva, Paula Andrea Osorio Carmona, José Antônio de Aquino Ribeiro, Nádia Skorupa Parachin, Simone Mendonça, Félix Gonçalves de Siqueira

Desenvolvimento de protocolo para análise estatística de metabolômica de leveduras por ANOVA 33

Christiane Gonçalves Campos, Igor Ferreira Nascimento, Henrique César Teixeira Veras, João Ricardo M. de Almeida, Nádia Parachin, Patrícia Verardi Abdelnur

***Fistulina hepatica* CC102: pré-tratamento biológico da torta do caroço de algodão em dietas para suínos 34**

Cibelli Paula de Castro, Ana Paula Fernandes Araújo, Joice Raisa Barbosa Cunha, Clemente Batista Soares Neto, Aparecido Almeida Conceição, Márvio Lobão Teixeira de Abreu, Eustáquio Souza Dias, Simone Mendonça, Félix Gonçalves de Siqueira

Ação de macrobasidiomiceto na desconstrução do cacho vazio de dendê 35

Elias Alves da Silva, Thais Demarchi Mendes, Thályta Fraga Pacheco, Raquel Bombarda Campanha, Simone Mendonça, Félix Gonçalves de Siqueira, Manoel Teixeira Souza Junior

Análise funcional e da diversidade de um consórcio microbiano capaz de degradar lignina 36

Ísis Viana Mendes, Mariana Botelho Garcia, Renata Henrique Santana, John Gladden, Ricardo Henrique Krüger, Betania Ferraz Quirino

Produção de uma β-expansina de cana-de-açúcar por *Komagataella phaffii* 37

Jéssica de Sá Guimarães Peixoto, Kelly Barreto Rodrigues, Gisele Soares Menino, Thais Demarchi Mendes, Helder Andrey Rocha Gomes, Renan Stefanini Lopes, Sílvia Belém Gonçalves, Fabrício Machado Silva, Léia Cecilia de Lima Fávaro

Macrobasidiomicetos da biodiversidade amazônica como agentes degradadores de ésteres forbol 38

Joice Raísa Barbosa Cunha, Taisa Godoy Gomes, José Antônio de Aquino Ribeiro, Eustáquio Souza Dias, Ceci Sales-Campos, Maria Aparecida de Jesus, Simone Mendonça, Félix Gonçalves de Siqueira

Avaliação do potencial de resíduos agroindustriais da produção de biocombustíveis na geração de biogás 39

Jozomar Ferreira Júnior, Guilherme Augusto Colusse, Sílvia Belém Gonçalves, Simone Mendonça, Carmen Luisa Barbosa Guedes

Análise cienciométrica da literatura científica global sobre o potencial nutricional e biotecnológico de Agaricomycetes 40

Laiza Rosa Rezende Naves das Mercês, Lucas Leonardo da Silva, Élida Lúcia da Cunha, Félix Gonçalves de Siqueira, Solange Xavier dos Santos

Imobilização sequencial de enzimas celulolíticas..... 41

Mariana Bisinotto Pereira, Bruno Lemos Nogueira, Dasciana de Sousa Rodrigues, Inti Doraci Cavalcanti Montano, Carlos Alberto Galeano Suarez

Diversidade microbiana e degradação de lignina em cultura enriquecida..... 42

Mariana Botelho Garcia, Ísis Viana Mendes Renata Henrique Santana, Ricardo Henrique Kruger, John Gladden, Betania Ferraz Quirino

Transformação de *Trichoderma harzianum* BRM27158 por *Agrobacterium tumefaciens* e caracterização de uma biblioteca de transformantes..... 43

Mariana Santos Tamietti, Gláucia Emy Okida Midorikawa, Paula Marcela Duque Jaramillo, Débora Costa da Cunha, Joana Flor Rattes Nunes, Léia Cecilia de Lima Fávaro, Eliane Ferreira Noronha

Estudos sobre a obtenção de ácido lático por processo fermentativo 44

Raissa Gabriela Martins Reis Barroso, Jamille Ribeiro Coelho de Lima, Thályta Fraga Pacheco, Sílvia Belém Gonçalves, Fabrício Machado Silva

Isolamento de leveduras endofíticas de folhas de melancia e seu potencial biotecnológico 45

Taís Aragão Ishizawa, Gláucia Emy Okida Midorikawa, Fabrício Souza Campos, Bruno Coelho Parrião, Léia Cecilia de Lima Fávaro, Raimundo Wagner de Souza Aguiar

Desenvolvimento de protocolo para imagem química por espectrometria de massas de metabólitos-microrganismos 46

Tallyta Santos Teixeira, Jorge Candido Rodrigues Neto, Pedro Alves Martins, Elias Alves da Silva, Patrícia Pinto Kalil Gonçalves Costa, Thaís Fabiana Chan Salum, Félix Gonçalves de Siqueira, Patrícia Verardi Abdelnur

Parâmetros germinativos em sementes de *Solanum lycopersicum* com substratos à base de resíduos da fungicultura 47

Vandinelma de Oliveira Vieira, Euziclei Gonzaga de Almeida, Aparecido Almeida Conceição, Murillo Lobo Junior, Fabio Bueno dos Reis Junior, Simone Mendonça, Félix Gonçalves de Siqueira

Identificação de microrganismos contaminantes de blenda biodiesel/diesel (B7) no Distrito Federal durante estocagem simulada..... 48

Artur Fiuza Borges Arantes, Mariana Santos Tamietti, Patrícia Portela de Medeiros Brunale, Betulia de Moraes Souto, Paula Fernandes Franco, Betania Ferraz Quirino, Itânia Pinheiro Soares, Léia Cecilia de Lima Fávaro

Enzimas desconstrutoras de parede celular vegetal secretadas por macrobasidiomicetos cultivados em cacho vazio de dendê 49

Dulce Cristine dos Santos, Elias Alves da Silva, Thais Demarchi Mendes, Thályta Fraga Pacheco, Manoel Teixeira de Souza Junior, Simone Mendonça, Félix Gonçalves de Siqueira

Expressão funcional de uma nova xilose isomerase em *Saccharomyces cerevisiae* 50

Gabriel de Souza Colombo, Ísis Viana Mendes, Betulia de Morais Souto, Nádia Parachin, João Ricardo Almeida, Betania Ferraz Quirino

Enzimas lignolíticas de macrobasidiomicetos cultivados em torta semente de algodão combinados com casca de coco verde 51

Romário Oliveira Paiva, Hetiene Pereira Marques, Elias Alves da Silva , Manoel Texeira de Souza Junior , Simone Mendonça, Félix Gonçalves de Siqueira

QUÍMICA DE RENOVÁVEIS E MATERIAIS..... 52

Avaliação da influência dos extrativos na qualidade das nanofibras obtidas de engaço de dendê 53

Beatriz Leite, Mariana Resende Alvim, Felipe Brandão de Paiva Carvalho, Larissa Andreani, Leonardo Fonseca Valadares, Manoel Teixeira Souza Júnior

Nanocompósitos de PLA e celulose: avaliação das propriedades mecânicas 54

Beatriz Leite, Mariana Resende Alvim, Larissa Andreani, Felipe Brandão de Paiva Carvalho, Leonardo Fonseca Valadares, Manoel Teixeira Souza Júnior

Mapeamento de potenciais parceiros por análise patentária: o caso da Embrapa Agroenergia 55

Melissa Braga, Priscila Mendes Ferreira,Gabriel Galvão Gomes

Desenvolvimento de protótipo miniatura de rastreador solar: uso de sensores, chip Arduino e impressão 3D 56

Wellington Rangel dos Santos, Paloma Reis Lucas, Leonardo Fonseca Valadares

Desenvolvimento de método por UHPLC-MS/MS para determinação de polióis provenientes da bioconversão de glicerina 57

Flávia Soares Vieira, Diana Rêgo Amazonas, José Antônio de Aquino Ribeiro, Mônica Caramez Triches Damaso, Clenilson Martins Rodrigues, Patrícia Verardi Abdelnur

Síntese de precursores do bioquerosene a partir de óleo fúsel da indústria alcooleira 58

Jonathan Baumi, Caroline Milane Bertosse, Itânia Pinheiro Soares, Carmen Luisa Barbosa Guedes

Desenvolvimento de protocolo de aplicação de matriz em folha de dendê para imagem química por MALDI-MS 59

Jorge Candido Rodrigues Neto,Tallyta Santos Teixeira, Patrícia Pinto Kalil Gomes Costa, Patrícia Verardi Abdelnur

Direcionamento tecnológico de pesquisas associadas à lignina segundo análise bibliométrica 60

Priscila Mendes Ferreira, Melissa Braga

Uso de catalisadores multifuncionais à base de Níquel na produção de *green diesel*..... 61

Gustavo Alves da Costa, Vânnia Cristina dos Santos-Durndell, Vanessa Alves Alvim, Diogo Keiji Nakai, Leonardo Fonseca Valadares, Itânia Pinheiro Soares

Estudo bibliométrico como apoio à tomada de decisão: o caso dos álcoois de cadeia curta..... 62

Mariana Andrade Furtado, Priscila Mendes Ferreira, Melissa Braga

Avaliação de toxicidade em *Artemia salina* de extratos de biomassas e resíduos agrícolas..... 63

Henrique de Oliveira Amaral, Olga Alves Costa Souza, Bruno Leite Sampaio, Raquel Bombarda Campanha, Simone Mendonça, Patrícia Abrão de Oliveira Molinari

Rendimento de nanofibras de celulose de cachos vazios de dendê em reação de hidrólise ácida..... 64

Tayane da Silva Eloi, Larissa Andreani, Felipe Brandão de Paiva Carvalho, Leonardo Fonseca Valadares

BIOMASSA PARA USO INDUSTRIAL

Leveduras não-*Saccharomyces* tolerantes a diferentes compostos químicos de hidrolisado lignocelulósico

Carlos Emanoel Vieira Flores Soares[1], João Ricardo Moreira de Almeida[2]

Resumo

Estudos com leveduras não-*Saccharomyces* capazes de fermentar xilose são importantes para produção de etanol de segunda geração e xilitol a partir da lignocelulose. A xilose é o segundo açúcar mais abundante na biomassa vegetal e pode corresponder a mais de 30% dos açúcares presentes, por exemplo, no bagaço de cana de açúcar. O hidrolisado lignocelulósico é um substrato rico em xilose que, ao ser formado a partir do pré-tratamento do bagaço de cana de açúcar, gera diferentes compostos químicos, dentre eles os ácidos alifáticos, furaldeídos e fenólicos, podendo ter efeitos negativos, como a inibição de crescimento e a diminuição de etanol produzido. O objetivo deste trabalho é obter uma linhagem de levedura não-*Saccharomyces* tolerante a diferentes compostos químicos de hidrolisado lignocelulósico. O método utilizado neste trabalho foi comparar 14 linhagens de leveduras, sendo sete não-*Saccharomyces* (*Candida tropicalis, Meyerozima sp. JA09, Spathaspora arborariae, Spathaspora passalidarum, Scheffersomyces stiptis, Spathaspora sp. JA01 e Wickerhamomyces anomalus 740*) e sete *Saccharomyces* (*Saccharomyces cerevisiae A11, Saccharomyces cerevisiae A12, Saccharomyces cerevisiae B1.1, Saccharomyces cerevisiae CAT-1, Saccharomyces cerevisiae G06, Saccharomyces cerevisiae G10* e *Saccharomyces cerevisiae JP-1*), por meio de curvas de crescimentos em microplaca de ELISA 96 poços durante 72 horas, crescidas em meio sintético YPD 20 g/L mais oito compostos químicos ácido acético, ácido cumárico, ácido ferúlico, ácido fórmico, furfural, 5-hidroximetil(furfural), valinina e seringaldeído, cada composto em três concentrações diferentes. Os resultados parcias obtidos demonstraram que as 7 leveduras *Saccharomyces* são tolerantes aos inibidores furfural, 5-hidroximetil (furfural), valinina e seringaldedido, ácido ferúlico e ácido cumárico e menos tolerantes ao ácido acético e ao ácido fórmico em duas das três concentrações testadas. Já as leveduras não-*Saccharomyces* apresentaram baixa tolerância aos inibidores em duas das três concentrações testadas para ácido acético, ácido fórmico, ácido ferúlico e ácido cumárico, valinina e seringaldeido, nas concentrações mais altas enquanto ao furfural elas praticamente não foram afetadas e ao 5-hidroximetil (furfural) elas foram inibidas apenas na concentração mais alta além de terem uma inibição no crescimento quando comparadas às leveduras *Saccharomyces*. Conlui-se que, entre as leveduras não-*Saccharomyces,* destacam-se como tolerantes aos compostos químicos de hidrolisado as linhagens de *C. tropicalis, W. anomalus 740* e *Meyerozima sp. JA09*.

Auxílio Financeiro: Embrapa.

Palavras-chave: xilose. hidrolisado. *Saccharomyces*.

[1] Biólogo, doutorando em Tecnologias Químicas e Biológicas, Universidade de Brasília, carlos.soares@colaborador.embrapa.br.
[2] Biólogo, doutor em Microbiologia Aplicada, pesquisador da Embrapa Agroenergia, joao.almeida@colaborador.embrapa.br.

Produção de biomassa algal: Uma abordagem econômica e bioquímica integrada

Dágon Manoel Ribeiro[1], Lorena Costa Garcia Calsing[2], Letícia Jungmann Cançado[3], Thomas Christopher Rhys Williams[4], Luiz Fernando Roncaratti[5], Bruno dos Santos Alves Figueiredo Brasil[6]

Resumo

A produção de biomassa algal para a utilização em diferentes aplicações biotecnológicas sustentáveis apresenta vantagens como: (i) elevada absorção de CO_2 e eficiência fotossintética; (ii) crescimento exponencial; (iii) alto teor de compostos de interesse, como lipídios, proteínas e carboidratos; (iv) capacidade de crescimento tanto em água doce quanto em águas salinas, salobras ou contaminadas por resíduos municipais ou agroindustriais; e (v) necessidade de pouca área em relação às culturas tradicionais como milho e cana-de-açúcar, podendo-se aproveitar terras impróprias para a agricultura. O objetivo deste trabalho foi utlizar uma abordagem integrada para a viabilização da produção de biomassa algal de forma custo-eficiente, considerando a fonte de nitrogênio e os custos dos reagentes. Para tanto, foi realizado o cálculo de custo e o crescimento da microalga *Chlorella sorokiniana* | LBA39 em diferentes formulações de meio de cultivo algal: i) O meio padrão Blue Green 11 (BG11); ii) o meio BG11 substituída a fonte de nitrogênio de nitrato de sódio por ureia, denominado *Blue Green* Ureia (BGU); iii) e formulação do meio baseada em fertilizantes, denominada *Blue Green* Ureia Fertilizante (BGUF). Como resultado, observou-se que a substituição da fonte de nitrogênio por ureia (BG11 → BGU) é suficiente para reduzir em 65% o custo do meio. Além disso, quando os componentes da formulação são todos derivados de fertilizantes comerciais (BGUF), o custo é reduzido em 95% comparativamente ao meio BG11. A cepa *Chlorella sorokiniana* | LBA39 foi cultivada utilizando os meios BG11, BGU e BGUF e mantidos em agitador rotatório orbital. O meio BGUF apresentou melhor desempenho comparado aos outros meios, com biomassa máxima acumulada de 0,73 g/L com base no peso seco (dw), seguido pelo meio BGU com 0,67 g/L (dw) e por BG11 com 0,58 g/L (dw). Subsequentemente, o meio BGUF foi utilizado para o cultivo de 4 cepas de microalgas da ordem *Chlorococcales* (*Chlorella* LBA29, *Chlorella* LBA 32, *Chlorella*, LBA 39 e *Chlorella* LBA 50). A cepa LBA 29 atingiu 1,9 g/L (dw), seguido por LBA 32 e LBA 50 com 1,7 g/L (dw) e LBA 39 com 1,2 g/L (dw) em culturas com aeração constante, e, em geral, as culturas mantidas em agitador orbital obtiveram menor acúmulo de biomassa, sem diferença estatística entre as espécies, variando de 0,4 g/L a 0,7 g/L (dw). Em conclusão, estima-se o custo aproximado de R$ 18/Kg de biomassa da cepa LBA29 cultivada em aeração constante em valor estimado com base no custo do meio de cultura e o acúmulo de biomassa gerada.

Auxílio Financeiro: Embrapa, UnB, Capes, CNPQ, FAPDF Finep.

Palavras-chave: *Chlorella.* bioprodutos. meio de cultivo. biotecnologia algal.

[1] Biotecnologista, doutorando em Biotecnologia e Biodiversidade, Universidade de Brasília, dagon.ribeiro@colaborador.embrapa.br.
[2] Engenheira de alimentos, doutora em Engenharia de Alimentos, analista da Embrapa Agroenergia, lorena.garcia@embrapa.br.
[3] Bióloga, doutora em Genética e Biologia Molecular, pesquisadora da Embrapa Agroenergia, leticia.jungmann@embrapa.br.
[4] Bioquímico, doutor em bioquímica vegetal, professor da Universidade de Brasília, tcrwilliams@unb.br.
[5] Físico, doutor em química, professor da Universidade de Brasília, roncaratti@fis.unb.br.
[6] Biólogo, doutor em Ciências Biológicas (Microbiologia), pesquisador e Secretário de Pesquisa e Desenvolvimento da Embrapa, bruno.brasil@embrapa.br.

Determinação do metabolismo de *Chlorella sorokiniana* em vinhaça sob diferentes condições de cultivo

Hugo Santana[1], Carolina Ribero Cereijo[2], Patrícia Portela de Medeiros Brunale[3], Sámed Ibrahim Isa Abdel Hadi[4], Letícia Jungmann Cançado[5], Bruno dos Santos Alves Figueiredo Brasil[6]

Resumo

As microalgas são um grupo de microrganismos fotossintetizantes com grande potencial biotecnológico, capazes de crescer em ambientes diversos com baixo requerimento nutricional. É reconhecido que a produção de biomassa microalgal pode ser aumentada caso o meio de cultivo seja rico em açúcares redutores, como a glicose, a exemplo da vinhaça, efluente resultante da produção de etanol a partir da cana-de-açúcar. Isto, no entanto, é dependente do tipo de metabolismo da microalga, que pode ser fotoautotrófico (luz-dependente), foto-heterotrófico (dependente de luz e carbono orgânico) ou mixotrófico (dependente de luz ou carbono orgânico). A cepa *Chlorella sorokiniana* Embrapa|LBA39 (LBA39) é um microrganismo capaz de crescer nesse efluente, no entanto, seu tipo de metabolismo ainda é desconhecido. Para determinar a dependência de luz, a LBA39 foi cultivada em vinhaça em quatro condições: axênica com iluminação (fotoperíodo de 12h/12h, 16.000 Lux) e sem iluminação, não axênica com iluminação e sem iluminação, mantidos por 8 dias a 26±2°C. A produção de biomassa foi determinada por peso seco e o metabolismo de açúcares redutores totais (ART) em vinhaça, a partir da análise em HPLC da vinhaça e dos sobrenadantes dos cultivos. Os dados demonstraram que, em condições axênicas, houve aumento de biomassa apenas no cultivo realizado com iluminação (1,38 g/L). No escuro (0,057 g/L), não houve diferença para o início do cultivo (0,05 g/L), indicando que o crescimento é luz-dependente. A determinação de ART nesses cultivos demonstrou que não houve redução do teor de ART nos mesmos em dos regimes de iluminação. Quando o cultivo foi realizado em condições não axênicas, foi observado aumento da biomassa, 3,29 g/L no claro e 1,05 g/L no escuro. Porém, comparado ao cultivo axênico, a diferença se deveu ao crescimento de microrganismos contaminantes heterotróficos, confirmado em análise microscópica e macroscópica da biomassa obtida. Essa informação foi validada a partir da determinação do teor de ART. No escuro, grande parte dos ART presentes na vinhaça (2,87 g/L) foi consumida ao final do experimento (0,01 g/L). No claro, observou-se pequena redução no teor de ART (13,24%), que não foi refletida no teor de biomassa (2,24 vezes maior no claro em comparação ao escuro). É possível que a LBA39 se beneficie do cocultivo com outros microrganismos, mas novas análises são necessárias para confirmar essa observação. Em conclusão, os dados obtidos indicam que o crescimento da cepa LBA39 em vinhaça é fotoautotrófico e que a mesma não é capaz de metabolizar os ART.

Auxílio Financeiro: Embrapa e Capes.

Palavras-chave: autotrófico. biomassa. efluente. rendimento. microrganismo. fotossíntese.

[1] Biotecnologista, mestre em Biociências, doutorando em Tecnologias Química e Biológica, Universidade de Brasília, hugo.santana@colaborador.embrapa.br.
[2] Bióloga, mestre em biotecnologia, doutoranda em Tecnologias Química e Biológica, Universidade de Brasília, carolina.cereijo@colaborador.embrapa.br.
[3] Química, mestre em Tecnologias Química e Biológica, ANP.
[4] Biotecnologista, mestre em Biotecnologia, doutorando em Bioinformática, Universidade Federal de Minas Gerais, samed.hadi@embrapa.br.
[5] Bióloga, mestre em Genética e Biologia Molecular, doutorada em Genética e Biologia Molecular, Embrapa Agroenergia, leticia.jungmann@embrapa.br.
[6] Biólogo, mestre em Microbiologia, doutor em Microbiologia, Embrapa Sede, bruno.brasil@embrapa.br.

Nova metodologia para determinação de acidez em óleo de dendê híbrido

Marina Borges Guimarães[1], Diogo Keiji Nakai[2], Thais Fabiana Chan Salum[3], José Antonio de Aquino Ribeiro[4], Simone Mendonça[5]

Resumo

Um dos fatores cruciais para a determinação da qualidade de óleos é o índice de acidez. Por sua vez, o índice de acidez representa o teor de ácidos graxos livres produzidos pela hidrólise dos triacilgliceróis por ação principalmente de uma lipase endógena. A determinação dos ácidos graxos livres é feita tradicionalmente por titulação. Entretanto, esta metodologia possui algumas limitações, como a necessidade de grande quantidade de amostra e grande volume de solventes, além do longo tempo para a realização das análises. Portanto, há o interesse em novas metodologias que não apresentem essas limitações. No presente trabalho, a acidez de óleos de onze diferentes acessos de dendê híbrido foi analisada pelo método oficial de titulação (realizada com KOH 0,02 mol/L) e por uma nova metodologia, desenvolvida em UPLC (Acquity H-Class, *Waters*), com detector ELSD. A coluna utilizada foi C18 HSS (1,8 µm, 2,1x150 mm) e a pré-coluna C18 HSS (1,8 µm, 2,1x5 mm). A temperatura da coluna foi de 30 °C, as amostras refrigeradas a 15 °C e volume de injeção de 5 µL. Os resultados foram calculados a partir dos picos dos ácidos graxos oleico, esteárico, palmítico, linoleico e linolênico e os resultados foram convertidos em mg KOH/g de amostra por meio de cálculos considerando a molaridade dos compostos. Os resultados foram comparados com os resultados obtidos através da titulação. Foi possível observar que os resultados variaram em relação às metodologias, sendo os resultados obtidos por UPLC no geral inferiores aos resultados obtidos por titulação. Os resultados variaram entre 17,43% a 462,64% de diferença, e óleos com acidezes menores que 1,8 mg KOH/g não foram detectados no UPLC. Além disso, no UPLC são utilizados apenas 15 mg de amostra, solubilizados em 1 mL de 2-propanol:hexano (5:4), enquanto na titulação é necessário 1 g de amostra e 40 mL de isopropanol+tolueno (1:1). Como a técnica desenvolvida por UPLC considera todos os ácidos graxos detectados, esses resultados podem ser um indicativo de que a determinação por titulação pode identificar outros compostos ácidos que não sejam os ácidos graxos livres presentes na amostra, além de ser uma alternativa mais amigável ao meio ambiente, com menor gasto de solventes e de rápida determinação de ácidos graxos livres.

Auxílio Financeiro: Finep (01.13.00315.00).

Palavras-chave: qualidade de óleo. ácidos graxos livres. UPLC. óleo de palma.

[1] Farmacêutica, mestranda em Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, marina.borges@colaborador.embrapa.br.
[2] Engenheiro de Bioprocessos e Biotecnologia, mestre em Ciências Mecânicas, analista da Embrapa Agroenergia, diogo.nakai@embrapa.br.
[3] Farmacêutica, doutora em Ciências (Bioquímia), pesquisadora da Embrapa Agroenergia, thais.salum@embrapa.br.
[4] Farmacêutico, mestre em Ciências Farmacêuticas, analista da Embrapa Agroenergia, jose.ribeiro@embrapa.br.
[5] Farmacêutica, doutora em Saúde Pública, pesquisadora da Embrapa Agroenergia, simone.mendonça@embrapa.br.

Metabolômica *untargeted* por UHPLC-MS em processos pré-tratamento biológico de torta de pinhão-manso por macrobasidiomicetos

Miriã de Almeida Souza[1], Marina Borges Guimarães[2], José Antônio de Aquino Ribeiro[3], Jorge Candido Rodrigues Neto[4], Simone Mendonca[5], Félix Gonçalves de Siqueira[6], Patrícia Verardi Abdelnur[7]

Resumo

A crescente demanda por fontes para a produção de biocombustíveis tem levado à utilização de vegetais como matérias-primas. O pinhão-manso é uma fonte vegetal que apresenta potencial para a produção de biodissel, mas é necessário avaliar a sua toxicidade devido à presença da curcina e ésteres de forbol em concentrações relativamente altas. A metabolômica auxilia na elucidação de tais substâncias químicas, permintindo a avaliação abrangente e simultânea de todos (ou quase todos) os metabólitos microbianos. Assim, este trabalho avaliou o perfil químico dos metabólitos presentes na torta de semente pinhão-manso (TSPM) biotransformada pelo macrobasidiomiceto *Pleutorus pulmonarius* (EF88), por meio da estratégia de metabolômica *untargeted* por UHPLC-MS. O EF 88 foi cultivado no sistema de fermentação estado sólido tendo TSPM como substrato, com umidade ajustada para 65%, por 15 dias a 28 °C. A TSPM-EF88 e TSPM (controle) foram secas a 40 °C por 24 h e maceradas. A extração dos metabólitos foi feita utilizando 10 mg do material macerado e 1 mL de solvente (etanol 80%, etanol 50%, etanol 30% ou água 100%). As amostras foram então submetidas a um banho ultrassônico por 10 minutos, centrifugadas por 3 min (1200 rpm) e o sobrenadante coletado foi filtrado com membrana de PVDF (Millex-GV) e analisados por UHPLC-MS. A separação dos analitos foi realizada no UHPLC (*Shimadzu*), empregando uma coluna C18 HSS T3, com eluente A (água com ácido fórmico 0,1%) e eluente B (acetonitrila com ácido fórmico 0,1 %) por 14 min. O espectrômetro de massas (*Bruker*) foi operado no modo *ESI*(-) e *ESI*(+), com uma voltagem do capilar de 4,2 kV e na faixa de massa *m/z* 80-1200. Os dados de massas foram submetidos à análise de componentes principais (PCA) com auxílio dos *softwares* XCMS e MetaboAnalyst. A PCA destacou as semelhanças e diferenças entre as amostras, separando-as em dois grupos correspondentes à TSPM-EF88 e TSPM. Nas análises por UHPLC-*ESI*(-)-MS, os íons *m/z* 243,0629 e 326,2331 foram característicos para o agrupamento das amostras de TSPM-EF88, enquanto os íons *m/z* 341,1197 e 683,2267 nas amostras de TSPM. Já nas análises por UHPLC-*ESI*(+)-MS, os íons *m/z* 120,0812 e 136,0618 se destacaram na amostra TSPM-EF88, e *m/z* 325,1115 e 232,1080 na TSPM. A estratégia de metabolômica *untargeted* comprovou a alteração na composição metabólica da TSPM antes e depois do cultivo do macrobasidiomiceto. O próximo passo será a identificação dos metabólitos de interesse que podem ser correlacionados e aplicados no setor agroindustrial.

Auxílio Financeiro: Capes.

Palavras-chave: *Jatropha curcas*. macrofungos. perfil químico. UHPLC-MS.

[1] Mestranda em Química, Universidade Federal de Goiás, miria.souza@colaborador.embrapa.br.
[2] Farmacêutica, mestranda em Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, marina.borges@colaborador.embrapa.br.
[3] Farmacêutico, mestre em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Minas Gerais, jose.ribeiro@embrapa.br.
[4] Químico, doutorando em Química, Universidade Federal de Goiás, jorge.rodrigues@colaborador.embrapa.br.
[5] Farmacêutica, doutora em Saúde Pública, pesquisadora da Embrapa Agroenergia, simone.mendonça@embrapa.br.
[6] Biólogo, doutor em Biologia Molecular, pesquisador da Embrapa Agroenergia, felix.siqueira@embrapa.br.
[7] Química, doutora em Química Orgânica, pesquisador da Embrapa Agroenergia, patrícia.abdelnur@embrapa.br.

Caracterização, pré-tratamento hidrotérmico, hidrólise enzimática e fermentação do bagaço de malte

Nicole Ribeiro Maione[1], Thályta Fraga Pacheco[2], Dasciana de Sousa Rodrigues[3], Carlos Alberto Galeano Suarez[4], Inti Doraci Cavalcanti Montano[5]

Resumo

O bagaço de malte é gerado como subproduto da indústria cervejeira e tem baixo valor econômico associado. Por ser uma matéria lignocelulósica, apresenta potencial para uma destinação mais rentável, como a produção de biocombustíveis. Esse estudo teve como intuito avaliar a produção de etanol partindo do bagaço de malte, utilizando pré-tratamento hidrotérmico, seguido de hidrólise enzimática e fermentação. O bagaço de malte in natura possui 15,0% de celulose, 12,6% de hemicelulose, 19,8% de lignina e 30,5% de proteínas. O pré-tratamento hidrotérmico, feito em um reator Parr de 1 L com 40 g de biomassa, 400 mL de água destilada a uma temperatura de 160 °C durante 20 minutos, levou à liquefação de 42% da biomassa inicial. A hidrólise enzimática de todo o conteúdo resultante do pré-tratamento, licor mais fibras, foi conduzida em Erlenmeyers adicionando tampão citrato 1 M pH 5,0, enzima Cellic Ctec3 e amilases e incubados a 50 °C durante 48 horas sob agitação constante em shakers. A concentração de glicose obtida foi de 10,2 g/L, definida por uma alíquota analisada em CLAE (Cromatografia Liquida de Alta Eficiência). Quantidades de 0,02 g/L de hidróxidometilfurfural foram encontrados durante a mesma análise após, sugerindo que poderia ocorrer inibição, mesmo que pequena, durante a fermentação. Para realizar a fermentação, foi necessária uma suplementação de glicose para obter uma concentração de 100 g/L, evitando uma diminuição da atividade da levedura por carência de substrato. Usando *Saccharomyces cerevisae*, a fermentação foi efetuada com agitação e amostras foram retiradas no início do processo, 4, 8 e 24 horas após iniciado, para acompanhar a produção de etanol. Os dados de concentração de glicose obtidos em 8 horas de fermentação mostraram que quase toda a glicose havia sido consumida nesse período de tempo. A concentração final de etanol foi de 42,2 g/L de solução fermentada, tendo assim um rendimento total de 82,6%, considerando a suplementação de glicose.

Auxílio Financeiro: Embrapa e Capes.

Palavras-chave: indústria cervejeira. rendimento de fermentação. pré-tratamento.

[1] Engenheira química, mestranda em Engenharia Química, Universidade Federal de Goiás, nicole.maione@colaborador.embrapa.br.
[2] Engenheira química, mestre em Engenharia Química, analista da Embrapa Agroenergia, thalyta.pacheco@embrapa.br.
[3] Química industrial, doutora em Engenharia Química, pesquisadora da Embrapa Agroenergia, dasciana.rodrigues@embrapa.br.
[4] Engenheiro químico, professor da Universidade Federal de Goiás, carlogalen21@gmail.com.
[5] Engenheira química, professora da Universidade Federal de Goiás, intidoca@gmail.com.

Produção de polióis por fungos filamentosos cultivados em glicerina bruta sob diferentes condições de luz

Samira Costa Braga[1], Elias Alves da Silva[2], Vivianny Nayse Belo Silva[3],Thaís Fabiana Chan Salum[4], Sílvia Belém Gonçalves[5]

Resumo

A glicerina bruta, principal coproduto da indústria do biodiesel, tem sido gerada em grandes volumes, e o excesso faz com que seu valor de mercado seja cada vez menor. Muitas indústrias não conseguem realizar uma destinação correta da glicerina bruta produzida, e seu descarte indevido pode levar a danos ambientais. Muitas pesquisas estão sendo desenvolvidas visando agregar valor a esse coproduto. Nesse contexto, a utilização de fungos filamentosos, que sabidamente são capazes de consumir a glicerina bruta e produzir metabólitos com diversas aplicações, vem sendo estudada. Um dos produtos obtidos a partir da conversão da glicerina são os polióis, álcoois poli--hídricos com aplicações na indústria farmacêutica, química e de alimentos. Estudos demonstraram que a luz e seus diferentes comprimentos de onda influenciam na reprodução, crescimento e na produção de metabólitos pelos fungos filamentosos. Nesse cenário, o objetivo deste trabalho foi avaliar a produção de polióis por fungo filamentoso, utilizando a glicerina bruta como substrato e três condições de luz durante a incubação. O isolado (GBB8) pertence à coleção "Microrganismos e Microalgas Aplicados à Agroenergia e Biorrefinarias" (CMMAABio), da Embrapa Agroenergia. O fungo foi cultivado durante 10 dias em meio Czapeck, utilizando glicerina bruta como única fonte de carbono. Para a incubação, foram utilizadas as condições: luz natural, luz azul e ausência de luz (escuro). Para a quantificação dos polióis, foram realizadas análises por cromatografia líquida de ultra alta performance (UPLC). A análise de variância indicou que não houve diferença significativa quando comparado o cultivo na presença de luz natural e na ausência de luz (escuro). Sendo os valores obtidos para o treitol de 0,42 $g.L^{-1}$ e 0,39 $g.L^{-1}$ na condição de luz natural e na ausência de luz (escuro), respectivamente. No entanto, ao comparar as condições de cultivo ausência de luz (escuro) e luz azul, houve diferença significativa, e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p<0,05$), os valores obtidos de treitol foram de 0,4 $g.L^{-1}$ e 1,0 $g.L^{-1}$ na condição de ausência de luz e na luz azul, respectivamente. Desse modo, os resultados indicaram que a luz azul exerce influência sobre o metabolismo do fungo nas condições testadas, porém mais estudos são necessários para aumentar a bioconversão da glicerina bruta em polióis.

Auxílio Financeiro: Bioglic, Capes.

Palavras-Chave: bioconversão. metabolismo fúngico. fungos filamentosos. polióis.

[1] Engenheira de alimentos, doutoranda em Tecnologias Química e Biológica pela Universidade Federal de Brasília, samiracostabraga@hotmail.com.
[2] Biólogo, doutorando em Biotecnologia Vegetal pela Universidade Federal de Lavras, elias.silva@colaborador.embrapa.br.
[3] Bióloga, doutoranda em Biotecnologia Vegetal pela Universidade Federal de Lavras, vivianny.silva@colaborador.embrapa.br.
[4] Farmacêutica, doutora em Ciências (Bioquímica), pesquisadora da Embrapa Agroenergia, thais.salum@embrapa.br.
[5] Engenheira química, doutora em Engenharia Química, pesquisadora da Embrapa Agroenergia, silvia.belem@embrapa.br.

Expressão diferencial de genes em *Pleurotus pulmonarius* associados a degradação enzimática e destoxificação da torta de pinhão-manso

Taísa Godoy Gomes[1], Gabriel Sergio Costa Alves[2], Sámed Ibrahim Isa Abdel Hadi[3], Marcos Mota do Carmo Costa[4], Simone Mendonça[5], Robert Neil Gerard Miller[6], Félix Gonçalves de Siqueira[7]

Resumo

Pinhão-manso *(Jatropha curcas)* é uma oleaginosa promissora para produção de biodiesel. A composição do coproduto gerado após a extração do óleo, chamado de torta, o torna um potencial candidato para ser usado na suplementação animal. No entanto, para tais fins, se faz necessária a inativação de compostos tóxicos presentes nesse resíduo, como os ésteres de forbol (EFs). Os EF são diterpenos que podem induzir respostas inflamatórias agudas e a formação de tumores em animais. No cenário de biodestoxificação, o basidiomiceto *P. pulmonarius* degrada com eficiência esse composto e ainda produz cogumelos comercialmente viáveis. Neste contexto, o presente trabalho teve como principal objetivo identificar genes envolvidos nesse processo de biodestoxificação, por meio de sequenciamento paralelo massivo do transcritoma de *P. pulmonarius* via Illumina HiSeq 2500. O transcritoma do basidiomiceto foi analisado em três momentos distintos e em torta de pinhão-manso com presença (bioensaio T) e ausência de EFs (bioensaio NT). Os pontos escolhidos (3, 7 e 11 dias) foram baseados nos resultados da curva de degradação dos EFs ao longo de 30 dias de cultivo sólido. O transcriptoma do fungo foi montado usando o software EvidentialGene e assim mapeados um total de 23.297 genes. Foram identificados 351 genes diferencialmente expressos (DEGs) no cultivo do basidiomiceto em torta de pinhão-manso tóxica, dos quais 234 estavam superexpressos e 117 reprimidos. Genes que codificam para proteínas como citocromo P450, hidrofobinas e *heat shock* foram regulados positivamente no tratamento T, em todos os dias avaliados. Além disso, as funções dos genes anotados foram classificadas pelas análises de *gene* (GO). As análises de expressão diferencial de genes obtidos neste trabalho fornecem os primeiros dados sobre os possíveis mecanismos envolvidos no processo de biodegradação, e podem ser usados para elucidar as vias metabólicas e principais proteínas envolvidas nesse bioprocesso.

Auxílio Financeiro: CNPq (404786/2013-8) , Capes.

Palavras chaves: *Jatropha curcas*. transcritoma. NGS. pré-tratamento biológico. macrofungos.

[1] Biotecnologista, doutoranda em Biologia Molecular, Universidade de Brasília, taisa.gomes@colaborador.embrapa.br.
[2] Biotecnologista, doutor em Biotecnologia Vegetal, Universidade de Brasília, gscalves@gmail.com.
[3] Biotecnologista, doutorando em Bioinformática, Universidade Federal de Minas Gerais, samed.ibrahim@colaborador.embrapa.br.
[4] Matemático, Analista da Embrapa recursos genéticos e biotecnologia, marcos.costa@embrapa.br.
[5] Farmacêutica, doutora em Saúde Pública, pesquisadora da Embrapa Agroenergia, simone.mendonca@embrapa.br.
[6] Biólogo, professor associado I, Universidade de Brasília, robertmiller@unb.br.
[7] Biólogo, doutor em Ciências Biológicas (Biologia Molecular), pesquisador da Embrapa Agroenergia, felix.siqueira@embrapa.br.

Análise morfofisiológica de *Portulaca olerecea* L. submetidos a estresse salino

Thalita Massaro Malheiros Ferreira[1], Vivianny Nayse Belo Silva[2], Manoel Teixeira Souza Júnior[3], Carlos Antônio Ferreira de Sousa[4]

Resumo

A salinidade dos solos é um dos principais estresses abióticos que limitam o crescimento e produtividade das espécies vegetais no âmbito da agricultura. As espécies vegetais são divididas em dois grandes grupos quanto à tolerância e à salinidade. As glicófitas correspondem a 99% da flora do planeta e não são capazes de completar seu ciclo de vida em ambientes com elevadas concentrações salinas. As plantas halófitas sobrevivem e se reproduzem em ambientes onde há alta concentração de NaCl, constituindo cerca de 1% da flora do planeta. O presente estudo objetivou avaliar as respostas morfofisiológicas de quatro acessos de beldroega (B1, B2, B3 e B5) ao estresse salino. Para isso, plantas dos diferentes acessos foram submetidas a estresse salino em concentrações de 0,0; 0,5; 1,0; 1,5; e 2,0g de NaCl/100g de substrato. As sementes de beldroega foram semeadas em meio de cultura (MS ½ força, Phytagel 0,2%, e pH 5,8) e transferidas para recipientes plásticos de 200 mL com 100 g de substrato. O experimento foi conduzido em câmara de crescimento em condições de 500±20 µmol m^{-2} s^{-1} PAR ao nível da planta, 25±2 °C de temperatura, 65±5% de umidade relativa e fotoperíodo de 16 horas luz/8 horas escuro. Durante um período de 5 dias após o início do estresse salino, as taxas de assimilação líquida de CO_2 (*A*), transpiração (*E*), condutância estomática (*gs*) e concentração intercelular de CO_2 (*Ci*) foram monitoradas. Foi avaliada ainda a fluorescência de clorofila. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco repetições por tratamento. A resposta ao estresse salino baseada nos parâmetros de trocas gasosas foram similares para os acessos B1 e B2 de beldroega, em que foi observada uma queda nos parâmetros *A*, *E*, *gs* e aumento em *Ci* ao longo do tempo e com o aumento das concentrações salinas, indicando tolerância à salinidade por suportarem concentrações de até 1 g de NaCl sem ocasionar a morte da planta. Em relação ao Rendimento Quântico Efetivo do Fotossistema II [Y(II)], os acessos B3 e B5 apresentaram comportamento semelhante quando comparadas as concentrações de 0,0, 0,5 e 1,5 de NaCl, diferindo apenas nas concentrações de 1,0 g e 2,0 g, ocorrendo uma queda mais acentuada do acesso B3. Os acessos foram afetados negativamente nas concentrações mais elevadas, entretanto, o acesso B5 apresentou maiores valores de YII na dose de 1,0 g de NaCl. Isso indica que, de maneira geral, os acessos apresentam-se como materiais tolerantes à salinidade.

Auxílio Financeiro: Capes.

Palavras-chave: beldroega. tolerância à salinidade. estresse abiótico.

[1] Bióloga, mestranda em Biotecnologia Vegetal, Universidade Federal de Lavras, thalita.massaro@colaborador.embrapa.br.
[2] Bióloga, doutoranda em Biotecnologia Vegetal, Universidade Federal de Lavras, vivianny.silva@colaborador.embrapa.br.
[3] Engenheiro-agrônomo, doutor em Fitopatologia, pesquisador da Embrapa Agroenergia, manoel.souza@embrapa.br.
[4] Engenheir-agrônomo, doutor em Biologia Vegetal, pesquisador da Embrapa Agroenergia, carlos.antonio@embrapa.br.

Atividade antioxidante de extrato fluido a partir de resíduos de oleaginosas

Andréa Samara da Silva Moraes[1], Bruno Leite Sampaio[2], Olga Costa Alves Souza[3], Raquel Bombarda Campanha[4], Patrícia Abrão de Oliveira Molinari[5], Lívia Cristina Lira de Sá Barreto[6], Simone Mendonça[7]

Resumo

O objetivo do trabalho foi avaliar a atividade antioxidante de extrato fluido a partir de resíduos agroindustriais provenientes da cadeia do biodiesel como casca de soja (CS) e casca da semente do algodão (CSA). Para tal, buscou-se desenvolver novas formas de obtenção de metabólitos secundários com propriedades antioxidantes de interesse industrial. Comparou-se a extração por maceração, com e sem agitação, protegida e não da luz, utilizando solução hidroalcoolica 80%, na proporção de 1:10 (resíduo:solvente). Nos macerados obtidos, quantificaram-se fenóis totais, flavonoides totais e atividade antioxidante, através dos métodos de sequestro de radical livre (DPPH e ABTS); e teste de estabilidade oxidativa, pelo aparelho Rancimat. Conduziu-se um ensaio de teor de extrativos nas tortas para a avaliação da técnica mais eficiente na retirada de compostos extratíveis, seguido de estudos dos processos de maceração. O teor de extrativos totais consiste em uma extração exaustiva sob altas pressões e temperatura controlada, por meio do aparelho extrator acelerado por solvente (ASE 350). Testes estatísticos de comparação de médias e análise de correlação foram realizados com auxílio do software R Core Team (2013) e GraphPadPrism®. Os resultados obtidos indicam que não houve diferença no rendimento da obtenção de extrato seco para as técnicas de maceração com e sem agitação e proteção à luz. O teor de extrativos totais evidenciou que as técnicas de maceração dinâmica e estática não foram eficientes na extração da CS, pois deixaram um teor residual maior que 50%. Isto influenciou negativamente a obtenção de compostos bioativos e, consequentemente, a atividade antioxidante para este resíduo. Todavia, a CSA apresentou resultados significativos para a maceração dinâmica quando comparada à maceração estática em relação à obtenção de compostos fenólicos e atividade antioxidante, nos três métodos estudados. A quantificação de flavonoides totais indicou valores abaixo dos limites de detecção do método para ambos os resíduos. A estabilidade oxidativa da CS demonstrou tempo de inibição significativo em comparação ao controle, sendo, neste caso, a extração estática mais favorável. Pela análise de correlação, verificou-se que os métodos antioxidantes empregados aparesentaram uma alta correlação com o teor de fenólicos totais obtidos a partir do resíduo da CSA. Conclui-se que a maceração dinâmica foi mais eficiente para obtenção de compostos bioativos para CSA. Para a CS, no entanto, há necessidade de ajustes no método para aumentar a eficiência da extração de compostos bioativos.

Auxílio Financeiro: Embrapa (SEG 02.16.05.019.00).

Palavras-chave: resíduos agroindustriais. casca da soja. casca da semente do algodão. atividade antioxidante.

[1] Graduanda em Farmácia, Universidade de Brasília, andrea.moraes@colaborador.embrapa.br.
[2] Farmacêutico, doutor em Ciências, bruno.leite@colaborador.embrapa.br.
[3] Graduanda em Farmácia, Universidade de Brasília, olga.souza@colaborador.embrapa.br.
[4] Química, mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos, analista da Embrapa Agroenergia, raquel.campanha@embrapa.br.
[5] Farmacêutica, doutora em Química, pesquisadora da Embrapa Agroenergia, patricia.oliveira@embrapa.br.
[6] Farmacêutica, doutora em Tecnologia Farmacêutica, professora da Universidade de Brasília, liviabarretofarm@hotmail.com.
[7] Farmacêutica, doutora em Saúde Pública, pesquisadora da Embrapa Agroenergia, simone.mendonca@embrapa.br.

Sinais fracos para tendências emergentes na pesquisa científica associada à agricultura biossalina

Cecília Lima Lopes[1], Melissa Braga[2], Manoel Teixeira Souza Júnior[3]

Resumo

Aproximadamente, 97% da água disponível no planeta se encontra nos oceanos. A água utilizada para o consumo humano e para a agricultura advém dos 3% restantes. A primeira metade do século 21 apresenta um desafio à raça humana, garantir disponibilidade de alimento para a população, que chegará a nove bilhões de pessoas em 2050. Isso precisa ser enfrentado no contexto do aquecimento global, que intensifica ainda mais o conflito de uso da água. Por essa razão, há um crescente interesse no desenvolvimento de plantas tolerantes à salinidade que permitam a irrigação de culturas agrícolas com água salobra. Diante das várias abordagens para o monitoramento do desenvolvimento científico associado a essas plantas, a técnica de sinais fracos tem destaque em razão de identificar oportunidades de pesquisas incipientes, porém promissoras. Este trabalho apresenta a análise quantitativa de citações e palavras-chave a fim de identificar sinais fracos associados à agricultura biossalina e tolerância à salinidade. Para tanto, buscou-se no *Journal Citation Reports* documentos científicos que continham nos resumos a associação de plantas halófitas ou agricultura biossalina (biosalin*, bio-salin*, salin*, "salt toleran*", "salt stress", hypersalin*, haloph*), associados a genes ou modificação genética, publicados entre 2008 e 2017. Desses documentos, foram excluídos aqueles que estavam com número de citações e fator de impacto do periódico abaixo da média, o que resultou em 615 artigos, cujas palavras-chave foram analisadas e classificadas em termos de espécies, tipo de estresse, hormônios e processos, apresentados a seguir, com o respectivo valor de contagem (em parênteses). No campo de organismos vivos, encontrou-se: *Arabidopsis thaliana* (205), como o termo mais citado entre todas as palavras-chave; *Oryza sativa* (84)*; Triticum aestivum* (28)*; Hordeum vulgare* (16)*; e* espécies que reagem ao oxigênio (16). Em relação aos estresses enfrentados pelos organismos, obteve-se: abiótico (120); à seca (117); hídrico (53); ao frio (47); oxidativo (43); e osmótico (32). Dentre os hormônios vegetais encontrados na busca, destacam-se: o ácido abscísico/ABA (131) e o ácido salicílico (15). Nos processos relacionados a genética e proteínas, as palavras em ascensão foram: fator de transcrição (76), proteína quinase (38) e sinal de transdução (34). Nas demais palavras-chave, encontram-se: peróxido de hidrogênio (26); colheita (24); membrana plasmática (15); senescência foliar (14) e óxido nítrico (14). Este trabalho deixa nítido que estresses associados às condições dos organismos são áreas de grande desenvolvimento, o que sugere o crescimento de novas tecnologias associadas à viabilização de uma agricultura biossalina, com plantas tolerantes à salinidade.

Auxílio Financeiro: Embrapa.

Palavras-chave: sinais fracos. agricultura biossalina. gene. estresse abiótico. tolerância à salinidade.

[1] Graduanda, em Ciências Biológicas, na Faculdade Anhanguera de Brasília, cecilia.lopes@colaborador.embrapa.br.
[2] Química, mestre em Química, analista da Embrapa Agroenergia, melissa.braga@embrapa.br.
[3] Engenheiro-agrônomo, doutor em Fitopatologia, pesquisador da Embrapa Agroenergia, manoel.souza@embrapa.br.

Avaliação da estabilidade oxidativa do biodiesel na presença de extratos

Vanessa Alvim Alves[1], Andrea Samara da Silva Moraes[2], Simone Mendonça[3], Patrícia Abrão Oliveira Molinari[4], Itânia Pinheiro Soares[5]

Resumo

O biodiesel é um combustível composto por ésteres saturados e insaturados. Por ser oxigenado e também devido a estas insaturações, torna-se mais suscetível a reações de oxidação que o diesel. Para ser comercializado, a Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP) exige que o combustível apresente estabilidade oxidativa mínima de 8 horas. Dessa forma, o biodiesel deve ser aditivado com um antioxidante na sua produção. Apesar de estarem disponíveis comercialmente aditivos que atendam a essa demanda, o mercado e a pesquisa necessitam de inovações e de propostas com menor custo, e se possível que possam vir de fontes renováveis. Idealmente, o antioxidante a ser adicionado deve garantir a estabilidade mínima exigida na legislação na menor concentração possível. E a concentração máxima permitida é de 5.000 mg kg^{-1}. Considerando fatores que impactam no valor de produção do combustível, como o preço da soja, que é uma commodity, e o gasto energético, é interessante que o aditivo onere o mínimo possível, para que o custo do biodiesel seja competitivo frente ao diesel de petróleo. A partir desse princípio, o objetivo deste trabalho foi testar o potencial antioxidante de extratos de biomassas que apresentam compostos antioxidantes, como extrato do coco e extrato da casca de algodão. Os ensaios foram realizados no Rancimat, nas concentrações 500, 1.000 e 2.000 mg kg^{-1}. Para as amostras com extrato do coco, foram obtidos os tempos de 1 h, 1,4 h e 40 minutos, para as concentrações 500, 1.000 e 2.000 mg kg-1, respectivamente. Para as amostras com extrato de casca de algodão, foram obtidos os tempos 1,2 h, 2 h e 3,94 h para as concentrações 500, 1.000 e 2.000 mg kg^{-1}, respectivamente. Além de apresentar maiores tempos de estabilidade e, portanto, maior potencial antioxidante, o extrato de casca de algodão não alterou a coloração do biodiesel. O que não ocorreu para amostras com extrato do coco, que ganharam coloração bastante escura. Etapas futuras devem ser conduzidas para fracionar o extrato da casca de algodão, na tentativa de potencializar o efeito observado.

Auxílio Financeiro: Embrapa.

Palavras-chave: antioxidante. extratos. estabilidade oxidativa. rancimat.

[1] Graduanda em Engenharia de Energia, Universidade de Brasília, vanessa.alves@colaborador.embrapa.br.
[2] Graduanda em Farmácia, Universidade de Brasília, andrea.moraes@colaborador.embrapa.br.
[3] Farmacêutica, doutora em Saúde Pública, pesquisadora da Embrapa Agroenergia, simone.mendonca@embrapa.br.
[4] Farmacêutica bioquímica, doutora em Química, pesquisadora da Embrapa Agroenergia, patricia.oliveira@embrapa.br.
[5] Química, doutora em Química, pesquisadora da Embrapa Agroenergia, itania.soares@embrapa.br.

BIOTECNOLOGIA INDUSTRIAL

BAHD5 – Novo gene-alvo para aumento de sacarose em gramíneas

Bruno Leite Sampaio[1], Karoline Estefani Duarte[2], Wagner Rodrigo de Souza[3], Felipe Vinecky[4], Henrique de Oliveira Amaral[5], Daniel Nogoceke Sifuentes[6], Bárbara Andrade Dias Brito da Cunha[7], Adilson Kenji Kobayashi[8], Patrícia Abrão de Oliveira Molinari[9], Hugo Bruno Correa Molinari[10]

Resumo

Setaria viridis é uma gramínea C4 que vem sendo utilizada pelo grupo de Biotecnologia Vegetal da Embrapa Agroenergia como planta modelo para o estudo do silenciamento de genes relacionados a enzimas aciltransferases (AT), mais especificamente os genes *BAHD1* e *BAHD5* (*SvBAHD01* e *SvBAHD05*). O silenciamento dos genes *BAHD* visa reduzir a recalcitrância em gramíneas com interesse comercial, principalmente a cana-de-açúcar, uma vez que se acredita que as AT estão ligadas ao processo de *cross-linking* de derivados hidroxicinâmicos (DHC) na parede celular. Como um efeito secundário ao silenciamento desses genes em *S. viridis*, observaram-se nas plantas geneticamente modificadas (GM) diferenças na proporção de alguns metabólitos solúveis (acúmulo de flavonoides), o que motivou a realização de um estudo metabolômico comparativo para avaliar diferenças entre os perfis metabólicos de plantas de *S. viridis* controle (não transformadas – NT) e geneticamente modificadas, com os genes-alvos silenciados (*BAHD1* – dois eventos transgênicos: 17.3 e 18.1; e *BAHD5* – três eventos transgênicos: 1.1, 2.1 e 3.1). Extratos de folha e colmo de plantas controle NT e eventos *BAHD1* e *BAHD5* foram analisados por HPLC-HRMS e HPAEC-PAD (quantificação de carboidratos solúveis) e os dados obtidos foram submetidos à análise estatística uni e multivariada. Os resultados oriundos da análise por HPLC-HRMS indicaram variações nas proporções de alguns metabólitos entre plantas controle NT e GM, sendo que a maior diferença no perfil metabólico foi observada para os eventos *BAHD5*. A etapa de desreplicação dos extratos aliada à análise quimiométrica permitiu identificar a sacarose como o principal metabólito discriminante nos eventos *BAHD5* e os resultados da análise de quantificação de carboidratos solúveis demonstraram um aumento estatisticamente significativo no acúmulo de sacarose na folha (Ev. 1.1 = 52,94%; Ev. 3.1 = 85,19%) e no colmo (Ev. 1.1 = 95,80%; Ev. 2.1 = 96,22%; Ev. 3.1 = 94.05%) de *S. viridis* para os eventos *BAHD5* em comparação ao controle NT. Os resultados aqui apresentados demonstram pela primeira vez que um gene não relacionado diretamente com o metabolismo da sacarose pode ser um alvo interessante e viável para aumentar a produção desse açúcar em gramíneas, em especial nas espécies exploradas comercialmente e cujo principal produto é a sacarose e/ou seus derivados, como a cana-de-açúcar, por exemplo. Por fim, o potencial de aplicação dessa estratégia biotecnológica em cana-de-açúcar e outras gramíneas pode representar um aumento expressivo na produção de sacarose com um consequente impacto econômico positivo sobre toda a cadeia produtiva.

Auxílio Financeiro: Embrapa (SEG 02.12.01.008.00.00).

Palavras-chave: gramíneas. perfil metabólico. acúmulo de açúcar.

[1] Farmacêutico, doutor em Ciências, Embrapa Agroenergia, bruno.leite@colaborador.embrapa.br.
[2] Bióloga, doutora em Biotecnologia Vegetal, Embrapa Agroenergia, karoline.duarte@colaborador.embrapa.br.
[3] Químico, doutor em Ciências, Embrapa Agroenergia, wagner.souza@colaborador.embrapa.br.
[4] Agrônomo, doutor em Biologia Molecular, Embrapa Agroenergia, felipe.vinecky@colaborador.embrapa.br.
[5] Graduando em Farmácia, Universidade de Brasília, henrique.amaral@colaborador.embrapa.br.
[6] Biólogo, doutor em Biologia Animal, analista da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, daniel.sifuentes@embrapa.br.
[7] Bióloga, mestre em Botânica, analista da Embrapa Agroenergia, barbara.dias@embrapa.br.
[8] Agrônomo, doutor em Fitopatologia, pesquisador da Embrapa Agroenergia, adilson.kobayashi@embrapa.br.
[9] Farmacêutica, doutora em Química, pesquisadora da Embrapa Agroenergia, patricia.oliveira@embrapa.br.
[10] Agrônomo, doutor em Agronomia, pesquisador da Embrapa Agroenergia, hugo.molinari@embrapa.br.

Avaliação da atividade da LPMO Cel61A de *Trichoderma reesei* sobre celulose por espectrometria de massas

Caio de Oliveira Gorgulho Silva[1], Tallyta Santos Teixeira[2], José Antônio de Aquino Ribeiro[3], Kelly Barreto Rodrigues[4], Gisele Soares Anastácio[5], Amanda Araújo Souza[6], Thais Demarchi Mendes[7], Thais Fabiana Chan Salum[8]; Léia Cecilia de Lima Fávaro[9], Patrícia Verardi Abdelnur[10]

Resumo

Mono-oxigenases líticas de polissacarídeos (LPMOs) são enzimas essenciais para a desconstrução de resíduos lignocelulósicos, uma vez que são capazes de impulsionar a degradação desses materiais por enzimas hidrolíticas tradicionais e diminuir a carga de proteínas necessária. A LPMO Cel61A do fungo modelo *Trichoderma reesei* é capaz de promover a clivagem oxidativa de celulose na presença de agentes redutores, além de apresentar atividade hidrolítica sobre esse polissacarídeo. Por esse motivo, Cel61A apresenta potencial para aplicação em biorrefinarias de lignocelulose. Este trabalho teve como objetivo avaliar a atividade de Cel61A sobre celulose amorfa (PASC, do inglês *Phosphoric Acid Swollen Cellulose*) em diferentes condições de pH por meio de técnicas analíticas qualitativas avançadas de espectrometria de massas. Cel61A foi produzida de forma heteróloga pela levedura *Komagataella phaffii* (sequência nativa, sem cauda de histidina) em biorreator e purificada por cromatografia de exclusão molecular. Para os testes de atividade enzimática, 6.16 µg de Cel61A foram incubados com PASC (2 mg/mL), ácido ascórbico (1 mM) e tampões acetato de sódio (10 mM) pH 4.5, 5.2 ou 6.0, a 50 °C, sob agitação (1.400 rpm), utilizando volume reacional de 1 mL. Experimentos na ausência de enzima e/ou ácido ascórbico foram realizados como controles negativos. Alíquotas foram recolhidas periodicamente, inativadas a 95 °C, centrifugadas e analisadas por MALDI-TOF MS e UHPLC-ESI-MS. Como resultado da combinação das duas técnicas qualitativas de espectrometria de massas, íons referentes a oligossacarídeos nativos com grau de polimerização (DP) entre 2 e 9 (DP2 – DP9) e oxidados ($DP2_{ox}$ – $DP5_{ox}$) foram detectados como produtos da ação de Cel61A sobre PASC a partir de 24h de incubação em todas as condições de pH testadas. Oligossacarídeos oxidados foram produzidos por Cel61A apenas quando na presença de ácido ascórbico (agente redutor), confirmando a atividade de LPMO da enzima. A liberação de produtos nativos, entretanto, foi observada independentemente da presença de ácido ascórbico, confirmando a atividade hidrolítica previamente observada por outros autores. As técnicas UHPLC-ESI-MS e MALDI-TOF MS se mostraram complementares para a análise dos produtos de ação de Cel61A. A primeira foi mais eficiente na detecção de diferentes produtos oxidados enquanto a segunda mostrou maior amplitude de detecção para oligossacarídeos nativos. Os resultados confirmam a funcionalidade de Cel61A de *T. reesei* produzida por *K. phaffii* com sequência nativa e sem cauda de histidina, na faixa de pH 4.5 – 6.0, possibilitando sua aplicação em sacarificação de biomassa lignocelulósica.

Auxílio financeiro: Embrapa(SEG 02.12.11.003.00.00).

Palavras-chave: LPMO. *Trichoderma reesei*. *Komagataella phaffii*. celulose. espectrometria de massas.

[1] Biólogo, doutor em Biologia Molecular, Universidade de Brasília, caio.silva@colaborador.embrapa.br.
[2] Engenheira de Bioprocessos e Biotecnologia, doutoranda em Química, Universidade Federal de Goiás, tallyta.santos@colaborador.embrapa.br.
[3] Farmacêutico, mestre em Ciências Farmacêuticas, analista da Embrapa Agroenergia, jose.ribeiro@embrapa.br.
[4] Bióloga, doutora em Biologia Molecular, Universidade de Brasília, kelly.rodrigues@colaborador.embrapa.br.
[5] Bióloga, mestre em Biologia Microbiana, Universidade de Brasília, gisele.soares@colaborador.embrapa.br.
[6] Bióloga, doutora em Biologia Molecular, Universidade de Brasília, amanda.araujo@colaborador.embrapa.br.
[7] Bióloga, mestre em Microbiologia Aplicada, analista da Embrapa Agroenergia, thais.demarchi@embrapa.br.
[8] Farmacêutica, doutora em Ciências (Bioquímica), pesquisadora da Embrapa Agroenergia, thais.salum@embrapa.br.
[9] Bióloga, doutora em Genética e Melhoramento de Plantas, pesquisadora da Embrapa Agroenergia, leia.favaro@embrapa.br.
[10] Química, doutora em Química Orgânica, pesquisadora da Embrapa Agroenergia, patrícia.abdelnur@embrapa.br.

Padronização de microensaio para dosagem de atividade xilanolítica

Helder Andrey Rocha Gomes[1], Daiana Wischral[2], Thályta Fraga Pacheco[3], Thais Demarchi Mendes[4], Thais Fabiana Chan Salum[5], Sílvia Belem Gonçalves[6], Mônica Caramez Triches Damaso[7]

Resumo

Métodos de quantificação de enzimas por microensaio são essenciais, principalmente, em processos de screening, pois reduzem a quantidade de reagentes utilizados e aumenta o número de amostras a serem analisadas no mesmo ensaio. As xilanases são enzimas que catalisam a hidrólise da xilana para produção de xilose. Ainda não existe na literatura a padronização da determinação de microensaio desta enzima, portanto, o objetivo deste trabalho foi padronizar um ensaio para determinação de xilanase em microescala. Nos experimentos, utilizou-se endoxilanase comercial de *Trichoderma longibrachiatum* e xilana comercial de *beechwood* nas concentrações de 1% e 4% (p/v). A determinação da concentração de açúcares redutores totais (ART) foi realizada a partir de 5 µL de enzima (diferentes diluições) e 45 µL de xilana. Os ensaios foram incubados a 50 °C em termociclador. Em seguida, 120 µL de ácido dinitrisalicílico (DNS) foram adicionados e o ensaio foi submetido à fervura durante 10 minutos. Posteriormente, 150 µL do ensaio foram transferidos para a microplaca de leitura e a absorbância foi determinada (540 nm) para o cálculo das concentrações de ART. O mesmo ensaio foi avaliado em outra configuração na qual foi adicionada uma etapa de diluição do ensaio após a fervura. Os ensaios foram realizados com tempos de incubação em termociclador de 5, 10, 15 e 30 minutos. Considerando as velocidades iniciais das reações, a taxa de formação de produto foi linearmente proporcional à concentração de enzima utilizada, para uma mesma concentração de substrato. O tempo de incubação de 15 minutos foi estabelecido para os ensaios enzimáticos futuros. As velocidades de formação de produto foram semelhantes para as concentrações de 1% e 4% de substrato, o que evidencia que a enzima já está saturada a partir da concentração de 1%. A quantificação de ART foi semelhante para as duas configurações de ensaio. O ensaio sem diluição foi selecionado, uma vez que se elimina uma etapa, minimizando assim as chances de erro experimental e aumentando a sensibilidade do método. Portanto, foram estabelecidas como condições padrão para dosagem de atividade xilanolítica: concentração de substrato em 1% (p/v) e tempo de reação de 15 minutos. Outros estudos serão realizados para extratos brutos. Contudo, já foi possível observar que para a padronização do ensaio, a diluição adequada do extrato deve fornecer, ao fim da reação, aproximadamente 0,0025 mg de ART, garantindo que haja ainda o excesso de substrato recomendado para utilização do método das velocidades iniciais.

Auxílio Financeiro: BNDES.

Palavras-chave: xilana de *beechwood*. xilanase. microensaio.

[1] Biólogo, doutor em Biologia Molecular, consultor da Embrapa Agroenergia, helder.gomes@colaborador.embrapa.br.
[2] Engenheira de alimentos, doutora em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, consultora da Embrapa Agroenergia, daiana.wischral@colaborador.embrapa.br.
[3] Engenheira química, mestre em Engenharia Química, analista da Embrapa Agroenergia, thalyta.pacheco@embrapa.br.
[4] Bióloga, mestre em Microbiologia Aplicada, analista da Embrapa Agroenergia, thais.demarchi@embrapa.br.
[5] Farmacêutica, doutora em Bioquímica, pesquisadora da Embrapa Agroenergia, thais.salum@embrapa.br.
[6] Engenheira química, doutora em Engenharia Química, pesquisadora da Embrapa Agroenergia, silvia.belem@embrapa.br.
[7] Engenheira química, doutora em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, pesquisadora da Embrapa Agroenergia, monica.damaso@embrapa.br.

Seleção e identificação de nova linhagem de levedura não-*Saccharomyces* tolerante ao hidrolisado lignocelulósico de cana-de-açúcar para produção de xilitol

Wilson Galvão de Morais Júnior[1], Thályta Fraga Pacheco[2], Débora Trichez[3], João Ricardo M. Almeida[4], Sílvia Belém Gonçalves[5]

Resumo

O xilitol (1,2,3,4,5-pentahidroxipentano) é um poliálcool de fórmula molecular $C_5H_{12}O_5$ com aplicações importantes devido às suas propriedades altamente adoçantes, capacidade de inibir o crescimento microbiano, baixo teor calórico, carcinogenicidade e propriedades cariostáticas, que tem sido amplamente utilizado como substituto da sacarose na indústria farmacêutica e alimentícia. É industrialmente produzido por hidrogenação catalítica de solução de xilose pura sob alta temperatura e pressão. No entanto, esse processo de produção é caro e apresenta baixos rendimentos devido à complexidade das etapas de recuperação do produto. Alternativamente, os processos de produção bioquímica têm sido extensivamente estudados utilizando diferentes microrganismos e substratos, tais como resíduos vegetais, sabugo de milho e bagaço de cana-de-açúcar. Os processos fermentativos ganharam muita atenção devido à possibilidade de usar leveduras para produzir xilitol com rendimentos entre 65% e 85%. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi desenvolver um processo para produção microbiana de xilitol utilizando hidrolisado de biomassa de cana-de-açúcar como substrato. Nesse contexto, 218 cepas *não-Saccharomyces* foram selecionadas por crescimento em hidrolisado de biomassa de cana-de-açúcar contendo alta concentração de ácido acético (8,0 g/L). Foram realizados 6 ciclos de fermentação com a mesma concentração inicial de xilose no meio. Os três primeiros ciclos foram realizados em meio YNB 6,7 g/L e os três ciclos subsequentes foram realizados em meio suplementado com hidrolisado nas concentrações de 15%, 30% e 45% de hidrolisado de biomassa de cana-de-açúcar. As culturas foram diluídas e plaqueadas em meio ágar YPD para isolamento das colônias individuais. Sete cepas foram selecionadas com base na estrutura morfológica das colônias. As leveduras foram identificadas como sendo *Candida tropicalis,* e a capacidade de produzir xilitol sob condições aeróbias, em hidrolisado de cana-de-açúcar a baixo pH (4,6), foi avaliada. A melhor cepa, denominada *C. tropicalis* JA2, com número de acesso ao GenBank MH229983 e armazenada na coleção de culturas CMAA com número CMAA 1716, foi capaz de produzir xilitol com rendimento de 0,47 g/g de xilose.

Auxílio Financeiro: Embrapa.

Palavras-chave: xilitol. hidrolisado de cana-de-açúcar. *Candida tropicalis*.

[1] Engenheiro químico, doutor em Engenharia Química, Universidade Federal de Uberlândia, wilson.morais@colaborador.embrapa.br.
[2] Engenheira química, mestre em Engenharia Química, analista da Embrapa Agroenergia, thalyta.pacheco@embrapa.br.
[3] Bióloga, doutora em Ciências, Universidade de São Paulo, debora.trichez@colaborador.embrapa.br.
[4] Biólogo, doutor em Microbiologia Aplicada, pesquisador da Embrapa Agroenergia, joao.almeida@embrapa.br.
[5] Engenheira química, doutora em Engenharia Química, pesquisadora da Embrapa Agroenergia, silvia.belem@embrapa.br.

Uso de lipases bacterianas para a síntese de biodiesel etílico

Pedro Alves Martins[1], Thályta Fraga Pacheco[2], Diogo Keiji Nakai[3], Janice Lisboa de Marco[4], Thaís Fabiana Chan Salum[5]

Resumo

Embora sejam conhecidas por seu papel biológico de hidrólise, as lipases são capazes de realizar uma variedade de reações em ambientes não aquosos, o que as torna enzimas particularmente versáteis. Entre várias aplicações, as lipases podem ser empregadas na síntese de biodiesel por meio da transesterificação de triacilgliceróis (ou mesmo esterificação de ácidos graxos) e álcoois de cadeia curta em ésteres monoalquílicos. Apesar de ser um processo mais sustentável, a síntese enzimática do biodiesel ainda é cara quando comparada ao processo de transesterificação alcalina, devido ao custo de obtenção desses biocatalisadores. A fim de mitigar o custo, a busca por novas e eficientes lipases bem como a obtenção de condições otimizadas do processo de reação são necessárias para aumentar a produção de lipases e superar essa limitação. Assim, este trabalho teve como objetivo potencializar a produção de ésteres etílicos a partir de um meio reacional contendo óleo de soja refinado e etanol. As lipases foram produzidas por fermentação em estado sólido em farelo de trigo considerando uma umidade de 65%, óleo de soja 1% e o uso da bactéria CNPAE 99 579 (isolada a partir de frutos de dendê e mantida na coleção "Microrganismos e Microalgas Aplicados à Agroenergia e Biorrefinarias" – CMMAABio). Ao final do cultivo, os sólidos fermentados resultantes foram liofilizados e utilizados como biocatalisadores para a reação de transesterificação. Foi aplicado um Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) para determinar a temperatura ótima (19,5 °C a 44,9 °C) e teor de água (0% a 10% m/m) em meio reacional isento de solvente que resultasse em uma melhor conversão do óleo de soja em ésteres etílicos. As reacões foram realizadas em frascos do tipo Erlenmeyer durante 72 horas a 170 rpm e considerando uma razão molar inicial de óleo de soja para etanol de 1:1. Os teores de ésteres foram calculados medindo as massas de ésteres etílicos cromatograficamente em um sistema UPLC. Os teores de ésteres obtidos variaram de 9,9% a 74,5% do máximo possível. Com a resposta experimental, um modelo matemático que efetivamente descreve o processo foi gerado e validado tanto estatisticamente como experimentalmente. A condição que maximiza a produção de ésteres representa uma temperatura de 31,2 °C e um teor de água de 4,1% (m/m), promovendo 76,2% do máximo teor de ésteres possível.

Auxílio Financeiro: Embrapa, Finep, Capes.

Palavras-chave: lipase. biodiesel. transesterificação.

[1] Biólogo, doutorando em Biologia Microbiana, Universidade de Brasília, pedro.alves@colaborador.embrapa.br.
[2] Engenheira química, mestre em Engenharia Química, analista da Embrapa Agroenergia, thalyta.pacheco@.embrapa.br.
[3] Engenheiro de Bioprocessos e Biotecnologia, mestre em Ciências Mecânicas, analista da Embrapa Agroenergia, diogo.nakai@embrapa.br.
[4] Bióloga, doutora em Biologia Molecular, professora da Universidade de Brasília, janicedemarco@unb.br.
[5] Farmacêutica, doutora em Bioquímica, pesquisadora da Embrapa Agroenergia, thais.salum@embrapa.br.

Análise de fluxo metabólico de leveduras fermentadoras de xilose para validação do metaboloma intracelular

Henrique César Teixeira Veras[1], Christiane Campos Gonçalves[2], Igor Ferreira Nascimento[3], Patrícia Verardi Abdelnur[4], João Ricardo Moreira de Almeida[5], Nádia Skorupa Parachin[6]

Resumo

A análise de fluxo metabólico (MFA) é usada para entender como os fluxos são distribuídos em uma rede metabólica, dado um determinado substrato como fonte de carbono. A partir dessa análise, pode-se prever o crescimento e a distribuição de produtos com base nas reações estequiométricas dentro de uma rede metabólica. As taxas de fluxos de consumo de substrato e taxas dos produtos formados são usadas como restrições para estimar a distribuição de carbono no modelo matemático construído com a rede de reações metabólicas. Neste estudo, um modelo estequiométrico foi desenvolvido utilizando dados de fermentação de xilose das leveduras *Scheffersomyces stipitis*, *Spathaspora arborariae* e *Spathaspora passalidarum*. Esses modelos foram utilizados pela primeira vez para validar a quantificação de onze metabólitos intracelulares dentro das vias catabólicas de xilose e glicose. A rede metabólica investigada possui cerca de 40 reações metabólicas, sendo que onze taxas de fluxo foram calculadas usando os dados metabolômicos. Entre eles, 80% do total de metabólitos foram validados com uma correlação acima de 90% quando comparados ao modelo estequiométrico calculado. Confirmando, assim, que o MFA pode ser utilizado para validação de dados do metaboloma. Entre os metabólitos intracelulares medidos, destacam-se frutose-6-fosfato, glicose-6-fosfato, malato e ribulose-5-fosfato, que foram validados em todas as leveduras estudadas. No entanto, para os metabólitos fosfoenolpiruvato e piruvato, as concentrações medidas não puderam ser correlacionadas com as concentrações previstas. Finalmente, foi possível comparar o metabolismo das três diferentes leveduras que fermentam xilose naturalmente, mostrando que o fluxo metabólico de xilose ocorre em mais alta taxa (maior velocidade de conversão da xilose) em *S. stipitis* do que foi observado em *S. passalidarum* e *S. arborariae*. As taxas dos fluxos metabólicos são divididas similarmente entre a via das pentoses fosfato e a glicólise. *S. arborariae* apresenta demanda 3,0 vezes maior de regeneração de NADPH do que a observada em *S. passalidarum*. A taxa de fluxo para formação de glicerol em *S. passalidarum* estava inativa e nesta levedura parece que ocorre um melhor balanço de cofatores como $NADH/NAD^+$, o que permite maior eficiência na fermentação da xilose.

Auxílio Financeiro: Capes e CNPq.

Palavras-chave: fermentação de xilose. fluxo metabólico. metaboloma. etanol.

[1] Biólogo, doutor em Biologia Molecular, Universidade de Brasília, hcveras@gmail.com.
[2] Química, doutoranda em Química, Universidade Federal de Goías, christiane.campo@colaborador.embrapa.br.
[3] Administrador, mestrando em administração, Universidade de Brasília, igor.ferreira.n@gmail.com.
[4] Química, doutora em Química Orgânica, pesquisadora da Embrapa Agroenergia, patrícia.abdelnur@embrapa.br.
[5] Biólogo, doutor em Microbiologia Aplicada, pesquisador da Embrapa Agroenergia, joao.almeida@embrapa.br.
[6] Bióloga, doutora em Engenharia Metabólica, pesquisadora, Universidade de Brasília, nadiasp@gamil.com.

Fungos filamentosos como agentes promissores da degradação de biossólidos

Solange Xavier dos Santos[1], Laiza Rosa Naves das Mercês[2], Lucas Leonardo da Silva[3], Élida Lúcia da Cunha[4], Verediana Fiorentin Rosa de Almeida[5], Brenda Letícia Sena[6], Izabel Cristina Moreira[7], Antônio Sérgio Ferreira de Sá[8], Félix Gonçalves de Siqueira[9]

Resumo

Muitas cidades brasileiras contam com estações de tratamento de esgoto (ETEs), que operam com diferentes sistemas tecnológicos. Em geral, nesses sistemas, a água retorna aos mananciais com bom grau de pureza. No entanto, o processo resulta na geração de um resíduo semissólido, pastoso e de natureza predominantemente orgânica, o chamado lodo de esgoto ou biossólido, constituído de compostos orgânicos e inorgânicos, que podem ser tóxicos e recalcitrantes e causar danos à saúde humana e ao ambiente. Por essa razão, sua produção e acúmulo em larga escala têm gerado preocupações e motivado estudos visando a sua degradação ou aproveitamento seguro. Nessa perspectiva, o objetivo deste trabalho foi investigar a capacidade de diferentes fungos filamentosos na degradação do biossólido proveniente de esgoto doméstico, quimicamente tratado, da ETE Dr. Hélio Seixo de Britto, Goiânia, Goiás. Foi detectada a presença de fungos filamentos no biossólido, resultando no isolamento de cinco morfotipos distintos, os quais foram empregados nos ensaios, juntamente com outros seis isolados da coleção de culturas de fungos do FungiLab da UEG/CCET. Todos os fungos testados foram capazes de crescer na presença do biossólido. Entretanto, o crescimento foi inibido proporcionalmente ao aumento da concentração do biossólido, exceto para *Phillipsia* sp. (SXS 629), cujo aumento do diâmetro da colônia foi proporcional ao aumento da concentração de biossólido. O pH foi um fator condicionante do crescimento fúngico; ainda que todos os isolados testados tenham sido capazes de crescer no meio contendo biossólido em seu pH original (10,5), conforme liberado pela ETE, a correção para 6,8 proporcionou maior crescimento. Com exceção de *Gloeophyllum* sp. (SXS 90), os demais isolados testados (*Inonotus rickii* SXS 37, *Ganoderma stipitatum* SXS 615 e *Hydnopolyporus palmatus* SXS 628) foram capazes de degradar o biossólido, já que cresceram em meio contendo biossólido como única fonte de carbono, com destaque para SXS 628, cujo crescimento no biossólido superou o crescimento no meio controle. A prospecção da atividade enzimática mostrou que todos os isolados avaliados foram capazes de sintetizar pelo menos duas das enzimas prospectadas, com destaque para SXS 630 e SXS 634, que apresentaram resultados positivos para todas as enzimas (carboximetilcelulase, tanase e polifenoloxidase). Ainda que ensaios complementares sejam necessários, os resultados demonstram o potencial para a utilização desses isolados fúngicos (combinados ou não) em processos biotecnológicos, visando à degradação do biossólido em questão, com destaque para o isolado *I. rickii* (SXS 37), que mostrou resultados favoráveis em todos os quesitos avaliados.

Auxílio Financeiro: Capes, Fapeg, CNPq AT/INCT, Saneago/ETE.

Palavras-chave: biorremediação. lodo ativado. tratamento de esgoto. goiânia.

[1] Bióloga, doutora em Microbiologia Aplicada, docente, Universidade Estadual de Goiás (FungiLab/UEG/CCET), solange.xavier@ueg.br.
[2] Bióloga, mestranda em Recursos Naturais do Cerrado, bolsista Capes, Universidade Estadual de Goiás (FungiLab/UEG/CCET), laiza.rosass@gmail.com.
[3] Biólogo, mestre em Ciências Aplicadas a Produtos para Saúde, bolsista AT/CNPq-INCT/HVFF, Universidade Estadual de Goiás (FungiLab/UEG/CCET).
[4] Bióloga, mestranda em Recursos Naturais do Cerrado, bolsista Fapeg, Universidade Estadual de Goiás (FungiLab/UEG/CCET).
[5] Engenheira agrícola, mestranda em Engenharia Agrícola, bolsista Capes, Universidade Estadual de Goiás (FungiLab/UEG/CCET).
[6] Bióloga, mestranda em Ensino de Ciências, bolsista Fapeg, Universidade Estadual de Goiás (FungiLab/UEG/CCET).
[7] Bióloga, mestranda em Recursos Naturais do Cerrado, bolsista Fapeg, Universidade Estadual de Goiás (FungiLab/UEG/CCET).
[8] Graduando em Biologia, bolsista PIBIC/CNPq, Universidade Estadual de Goiás (FungiLab/UEG/CCET).
[9] Biólogo, doutor em Ciências Biológicas (Biologia Molecular), pesquisador da Embrapa Agroenergia, felix.siqueira@embrapa.br.

Divergence of DNA methylation and gene expression in *Setaria viridis* accessions under drought stress

Thaís Ribeiro Santiago[1], Karoline Estefani Duarte[2], Wagner Rodrigo de Souza[3], Andrei Stecca Steindorff[4], Eduardo Fernandes Formighieri[5], Adilson Kenji Kobayashi[6], Hugo Bruno Correa Molinari[7]

Abstract

DNA methylation is one of the main epigenetic mechanisms involved in gene regulation. A better understanding of this can provide insights into regulatory mechanisms underlying abiotic response. The DNA methylation pattern in the genome of two accessions of *Setaria viridis* (A10.1 and Ast-1) submitted to drought stress was investigated. The experiment was performed in three biological replicates, and the drought stress treatment was applied for 5 days in plants at the booting stage. The treatments consisted of (*i*) moderate stress and (*ii*) field capacity. For DNA methylation analysis, genomic DNA was isolated and treated with bisulphite. The QC of the data was performed using FastQC and mapped through BSMAP v1.0. The unique and aligned reads served as input in the Methylkit (v1.7.4). 11-35 million high-quality reads were obtained, reflecting > 40-fold of genome coverage from each sample. We identified methylated C residues at least five read depth. The frequencies of mCs were similar in Ast-1 with moderate stress and control condition (named Ast1_MS with 5.85% and Ast1_CC with 6.04%), lower in A10 under moderate stress (A10_MS with 4.78%) and higher in A10.1 in well-irrigated conditions (A10_CC with 6.24%). From the total mCs, the highest fraction was CG (62-68.3%), followed by CHG (34.3-41.3) and CHH (2.9-4.7%) in both conditions tested. DNA methylation is concentrated in the pericentromeric regions of chromosomes compared with the end, indicating methylation of repetitive sequences. A considerable number of mCs was found in the intergenic region, followed by promoter, intron and exon regions. Evaluation in genes and transposable elements (TEs) revealed higher methylation at genes for CHG and CHH, and higher at TEs for CG. A large number of GCs was located within gene body and the frequency of CHG and CHH was considerably higher in the upstream and downstream regions. A total of 18.458 differentially methylated regions (DMRs, 10.818 hyper and 7.640 hypomethylation) were identified between A10.1 and Ast-1 accessions, 36 DMRs (9 hyper and 25 hypomethylation) in Ast-1 between drought *vs* control and 150 DMRs (58 hyper and 92 hypomethylation) in A10.1 between conditions (q-value <0.01). Gene ontology revealed that most of the genes involved in fiber organization, transmembrane transport and response to stress. High correlation was observed between methylation and gene expression by qPCR. These results provide insights in the interplay among DNA methylation and gene expression and suggest a role in abiotic stress adaptation in different genotypes.

Auxílio Financeiro: Embrapa (SEG 03.16.05.026.00.00).

Palavras-chave: methylomes. TE methylation. whole genome bisulphite sequencing. differential methylation.

[1] Agrônoma, doutora em Fitopatologia, consultora da Fundação Eliseu Alves, thais.santiago@ufv.br.
[2] Bióloga, doutora em Biotecnologia, consultora da Fundação Eliseu Alves, karollduarte31@gmail.com.
[3] Químico, doutor em Bioquímica, consultor da Fundação Eliseu Alves, wagnerusp@gmail.com.
[4] Biólogo, doutor em Ciências Biológicas, consultor da Fundação Eliseu Alves, andreistecca@gmail.com.
[5] Agrônomo, doutor em Biologia Funcional e Molecular, pesquisador da Embrapa Agroenergia, eduardo.formighieri@embrapa.br.
[6] Biólogo, doutor em Biologia Molecular, pesquisador da Embrapa Agroenergia, adilson.kobayashi@embrapa.br.
[7] Agrônomo, doutor em Agronomia (Produção Vegetal), pesquisador da Embrapa Agroenergia, hugo.molinari@embrapa.br.

Enhancement of ligninolytic enzyme activities in an *Aspergillus terreus* co-culture with macrofungi

Aparecido Almeida Conceição[1], Elias Alves da Silva[2], Paula Andrea Osorio Carmona[3], José Antônio de Aquino Ribeiro[4], Nádia Skorupa Parachin[5], Simone Mendonça[6], Félix Gonçalves de Siqueira[7]

Abstract

Co-cultivation is a potential strategy in lignocellulolytic biodegradation with producing high activity enzymes due to synergic or stress action between two or more microorganism species. The objective of this study was to investigate the effect of different days co-culturing of two fungi on lacase and peroxidase production using cottonseed cake (CSC) as substrate. Spores of *Aspergillus terreus* ATCC20542 ($1x10^7$) were firstelly inoculated in 50 mL of liquid medium contain basal components (yeast extract, KH_2PO_4, $MgSO_4.7H_2O$, $ZnSO_4.7H_2O$, $Fe(NO)_3.9H_2O$, MnCl, $Na_2MoO_4.2H_2O$, $CuSO_4.5H_2O$) and 7% of CSC. After 0, 1, 3 and 7 days of *A. terreus* in monoculture growth, mycellium of *Panus lecomtei* CC40 or *Fistulina hepatica* CC102 were inoculated for co-culture period. The laccase and peroxidase activities were evaluated after 0, 1, 3, and 7 days of co-culturing incubation. The highest increases of laccase (1085.82±54.75 $UI.mL^{-1}$) and peroxidase (685.40±87.30 UI.mL-1) activities were seen in co-cultures with CC40 after 3 and 7 days, respectively; both result observed when CC40 was inoculated in CSC medium containing *A. terreus* growing for seven days in monoculture. When co--cultured *A. terreus* and CC102, lacasse activity increase to 943.69±55.04 $UI.mL^{-1}$ and peroxidase highest activity was only 3.59±1.55 $UI.mL^{-1}$ after 3 and 1 day of co-culture, respectively; both, also, when cultured in medium contained *A. terreus* growing for seven days in monoculture. These levels of activity were significantly different from the enzyme activity when the two fungi species were growing in monoculture. *P. lecomtei* appeared to possess specific potential to be used in co-cultured production of oxidative enzymes. The production of laccase and peroxidase was not only dependent on the species of macrofungi used for co-culture but also regulated by different days of each fungi inoculation. In conclusion, interaction between *A. terreus* and *P. lecomtei* improves laccase and peroxidase activities. The inoculation time of *P. lecomtei* on *A. terreus* culture plays an important role in the laccase and peroxidase enhancement.

Auxílio Financeiro: CNPq (404786/2013-8), Fapesb, Capes.

Keywords: cottonseed cake. fungal co-culture. macro-basidiomycets. oxidases.

[1] Mestre em Biociências, Universidade Federal da Bahia, cido1991@hotmail.com.
[2] Biólogo, doutorando em biotecnologia vegetal, Universidade Federal de Lavras (Ufla)/Capes-Embrapa elias.silva@colaborador.embrapa.br.
[3] Agrônoma, doutora em Agronomia, Universidade de Brasília, osorio.carmona@gmail.com.
[4] Farmacêutico, mestre em em Ciências Farmacêuticas, Analista da Embrapa Agroenergia, jose.ribeiro@embrapa.br.
[5] Bióloga, doutora em Engenharia Metabólica, pesquisadora Universidade de Brasília, nadiasp@gamil.com.
[6] Farmacêutica, doutora em Saúde Pública, pesquisadora da Embrapa Agroenergia, simone.mendonca@embrapa.br.
[7] Biólogo, doutor em Microbiologia Aplicada, pesquisador da Embrapa Agroenergia, felix.siqueira@embrapa.br.

Desenvolvimento de protocolo para análise estatística de metabolômica de leveduras por ANOVA

Christiane Gonçalves Campos[1], Igor Ferreira Nascimento[2], Henrique César Teixeira Veras[3], João Ricardo M. de Almeida[4], Nádia Parachin[5], Patrícia Verardi Abdelnur[6]

Resumo

Um dos desafios na produção do etanol de segunda geração (2G) está no desenvolvimento de tecnologias eficientes para converter xilose em etanol no processo de fermentação de açúcares. A investigação das vias de assimilação da xilose por leveduras pode fornecer informações relevantes quanto às etapas limitantes no metabolismo de conversão desta pentose e auxiliar na construção de linhagens modificadas geneticamente. A tecnologia baseada em metabolômica tem sido amplamente utilizada para responder a questões biológicas importantes, tendo em vista ser capaz de identificar e quantificar os metabólitos presentes em um sistema biológico. No entanto, o grande volume de informações geradas em um experimento de metabolômica torna necessária a utilização de um modelo matemático e biologicamente representativo para a análise e interpretação dos dados obtidos. O objetivo deste trabalho foi desenvolver um protocolo de análise estatística para interpretar os dados obtidos na quantificação por UHPLC-MS/MS dos principais metabólitos intracelulares relacionados às vias de conversão da xilose a etanol da levedura *Spathaspora arborariae*. A levedura *S. arborariae* foi crescida em duas diferentes condições: aeróbico e microaeróbico em triplicata biológica. Cada réplica biológica foi mensurada em três instantes diferentes: 27, 32 e 40 horas durante a fase de crescimento exponencial. Cada mensuração foi realizada três vezes (totalizando 18 medidas), a fim de reduzir o erro operacional, sendo considerada para análise a média dessas três medidas. O desenho experimental permitiu medir os efeitos tempo e condição de crescimento por meio dos valores da concentração dos metabólitos utilizando o modelo ANOVA com medidas repetidas. A partir da análise estatística dos resultados, foi possível obter o nível de significância do modelo ANOVA desenvolvido para os fatores avaliados e a interação entre eles. A condição de crescimento microaeróbico apresentou valores de coeficientes negativos para todos os metabólitos medidos, indicando que o ambiente com baixo oxigênio resulta em menor concentração dos compostos. Além disso, a análise por ANOVA permitiu avaliar a diferença significativa entre as condições de crescimento e o efeito de interação entre esta variável e o tempo de coleta. No entanto, para a análise metabolômica, decidiu-se utilizar apenas o segundo ponto de coleta (32 h), pois este é o ponto central de crescimento da levedura e no qual as concentrações dos metabólitos apresentam maior linearidade. O modelo ANOVA com medidas repetidas foi agregado ao protocolo de metabolômica estabelecido e otimizado pelo grupo e poderá ser aplicado aos dados obtidos nos experimentos de metabolômica utilizando outras espécies de leveduras fermentadoras de xilose.

Auxílio Financeiro: Capes, FAP-DF.

Palavras-chave: *S. arborariae*. análise de variância. metabólitos intracelulares. fermentação. Xilose.

[1] Química, doutoranda em Química, Universidade Federal de Goiás, christiane.campos@colaborador.embrapa.br.
[2] Estatístico, doutorando em Estatística, Universidade de Brasília, igor.ferreira.n@gmail.com.
[3] Biólogo, doutor em Biologia Molecular, Universidade de Brasília, hcveras@gmail.com.
[4] Biólogo, doutor em Microbiologia Aplicada, pesquisador da Embrapa Agroenergia, joao.almeida@embrapa.br.
[5] Bióloga, doutora em Biologia Molecular, Universidade de Brasília, nadiasp@gmail.com.
[6] Química, doutora em Química Orgânica, pesquisador da Embrapa Agroenergia, patricia.abdelnur@embrapa.br.

Fistulina hepatica CC102: pré-tratamento biológico da torta do caroço de algodão em dietas para suínos

Cibelli Paula de Castro[1], Ana Paula Fernandes Araújo[2], Joice Raisa Barbosa Cunha[3], Clemente Batista Soares Neto[4], Aparecido Almeida Conceição[5], Márvio Lobão Teixeira de Abreu[6], Eustáquio Souza Dias[7], Simone Mendonça[8], Félix Gonçalves de Siqueira[9]

Resumo

A torta do caroço de algodão (TCA) é um coproduto gerado na agroindústria durante a obtenção de óleo vegetal. A TCA é comercializada como fonte proteica nas dietas de ruminantes, sendo limitado ao uso para animais não ruminantes, em função de substâncias químicas antinutricionais, como gossipol. Entretanto, a TCA pode ser mais bem explorada na produção de aves e suínos a partir da degradação dos compostos tóxicos e aumento da energia e seus nutrientes por meio da deslignificação total ou parcial. Os macrofungos são microrganismos que degradam compostos lignocelulolíticos e são promissores no tratamento de compostos químicos da parede celular vegetal, considerados antinutricionais na nutrição animal. Objetivou-se com este trabalho avaliar a performance do macrofungo *Fistulina hepatica* CC102 como agente responsável pela biotransformação de TCA aplicável à nutrição de suínos. O CC102 foi avaliado quanto à capacidade de crescimento e diferentes tipos de meio contendo TCA. A biomassa de TCA+*Fistulina hepatica* CC102 foi caracterizada quanto aos teores de degradação de gossipol, enzimas lignocelulolíticas (análises ao final do cultivo) e análises bromatológicas. A biomassa TCA-CC102 foi avaliada quanto à toxicidade com *Artemia salina* e roedores para que pudessem ser utilizadas como insumo na nutrição de suínos. O CC102 apresentou crescimento micelial significativo em meios contendo agar-torta--caroço-de-algodão (10%) e meios de cultivo contendo apenas TCA ou caroço de algodão triturado (CAT), cultivo em frascos de vidro. A degradação de gosssipol livre em TCA-CC102 ou CAT-CC102 foi avaliada por meio de cromatografia em UPLC. A redução do gossipol livre residual nos dois tipos de biomassas pré--tratadas biologicamente pelo *F. hepatica* CC102 alcançou valores acima de 99,5%. Atividades enzimáticas foram feitas de forma a observar quais seriam as enzimas lignocelulolíticas com maior e menor presença no processo. As enzimas lignocelulolíticas lacases e peroxidases mostraram resultados significativos, enquanto que a xilanase foi a mais ativa entre as carboidrases. Os teores de proteína bruta (21%) tiveram 31% de aumento em relação às biomassas não tratadas (16%), mostrando também alteração no perfil de aminoácidos essenciais, tais como cisteína e lisina. Os teores de lipídios foram reduzidos e os compostos lignocelulolíticos foram degradados, mostrando um futuro aproveitamento por suínos. Os experimentos com esses animais foram finalizados e os resultados estão sendo analisados, gerando a expectativa da criação do processo microbiano para tratamento e enriquecimento de torta ou semente de algodão por ação do macrofungo *Fistulina hepatica* CC102.

Auxílio Financeiro: CNPq (404786/2013-8)/Fapemig.

Palavras-chave: *Fistulina hepatica CC102*. gossipol. degradação. enzimas. biomassa. bromatologia.

[1] Zootecnista, doutoranda em Microbiologia Agrícola, Universidade Federal de Lavras, cibellizoo@yahoocom.br.
[2] Biomédica, mestre em Biotecnologia, Universidade Federal do Tocantins, anapaula.araujo1@yahoo.com.br.
[3] Biotecnologista, doutoranda em Microbiologia Agrícola, Universidade Federal de Lavras, joice.raisa@gmail.com.
[4] Biólogo, doutorando em Biologia Molecular, Universidade de Brasília, clemente.batista@colaborador.embrapa.com.br.
[5] Biotecnologista, mestre em Biociências, cido1991@hotmail.com.
[6] Médico-veterinário, doutor em Zootecnia, professor da Universidade Federal de Lavras, marvio@dzo.ufla.br.
[7] Agrônomo, doutor em Genética e Melhoramento, professor da Universidade Federal de Lavras, esdias@dbi.ufla.br.
[8] Farmacêutica, doutora em Saúde Pública, pesquisadora da Embrapa Agroenergia, simone.mendonca@embrapa.br.
[9] Biólogo, doutor em Biologia Molecular, pesquisador da Embrapa Agroenergia, felix.siqueira@embrapa.br.

Ação de macrobasidiomiceto na desconstrução do cacho vazio de dendê

Elias Alves da Silva[1], Thais Demarchi Mendes[2], Thályta Fraga Pacheco[3], Raquel Bombarda Campanha[4], Simone Mendonça[5], Félix Gonçalves de Siqueira[6], Manoel Teixeira Souza Junior[7]

Resumo

A palma (*Elaeis* sp.) é a cultura de maior produtividade de óleo por área cultivada dentre as plantas oleaginosas empregadas comercialmente. A gordura extraída desta planta é o óleo vegetal mais consumido no mundo. Entretanto, a dendecultura produz anualmente milhões de toneladas de resíduos como, por exemplo, os cachos de frutos vazios. O aproveitamento desses resíduos para geração de bioprodutos de valor agregado, tais como açúcares solúveis ou químicos renováveis, requer processos de pré-tratamentos das biomassas. O pré-tratamento biológico, utilizando macrobasidiomicetos/macrofungos, pode se destacar devido à capacidade de produção de enzimas lignolíticas, como lacases e peroxidases, que atuam na desconstrução das estruturas recalcitrantes da biomassa lignocelulósica. Nesse contexto, esse trabalho teve como objetivo avaliar (i) o pré-tratamento biológico do cacho vazio de dendê pelo basidiomiceto FPB115 e (ii) a influência da combinação do extrato bruto enzimático (EBE) com coquetel celulolítico comercial na hidrólise desta biomassa pré-tratada por auto-hidrólise. O FPB 115, pertencente à coleção "Microrganismos e Microalgas Aplicados à Agroenergia e Biorrefinarias" (CMMAABio), foi cultivado em cacho de dendê triturado (fermentação no estado sólido) durante 15 dias a 28 °C. Após a colonização, uma triplicata foi congelada, liofilizada e triturada para caracterização da composição química da biomassa e sacarificação. Outra triplicata foi utilizada para obtenção do EBE-FB115, que, juntamente com enzimas comerciais, foi adicionado ao cacho pré-tratado hidrotermicamente. O pré-tratamento biológico do cacho pelo FPB115 promoveu redução de 1,86% de lignina e 5,72% de celulose comparado ao material sem pré-tratamento. A sacarificação deste material realizada com Cellic® CTec3 (Novozymes®), resultou, após 24 horas, na liberação de 0,6 $g.L^{-1}$ de glicose e 1,4 $g.L^{-1}$ de xilose, o que corresponde, respectivamente, a 3,5% e 16% de conversão. Utilizando o cacho pré-tratado por auto-hidrólise, não se observou elevação dos teores de glicose e xilose liberados quando combinado EBE-FPB115 com enzimas comerciais Celluclast e celobiase (0,65% e 0,35% de 12,5 mg de proteína respectivamente). Os resultados indicam que o pré-tratamento biológico do cacho com FPB115 promove redução da lignina e favorece a sacarificação. Contudo, nas condições testadas, o EBE-FPB115 juntamente com enzimas comerciais não melhorou a hidrólise do cacho pré-tratado. É importante ressaltar que fatores como o tempo de cultivo e tipo de biomassa podem influenciar no aumento/diminuição das variáveis analisadas, incentivando mais investigações.

Auxílio Financeiro: Finep (01.13.00315.00), Capes.

Palavras-chave: dendecultura. pré-tratamento biológico. açúcares fermentescíveis. biorrefinaria.

[1] Biólogo, mestre em Plantas Medicinais, Aromáticas e Condimentares, doutorando em Biotecnologia Vegetal, Universidade Federal de Lavras (Ufla) / Capes-Embrapa, elias.silva@colaborador.embrapa.br.
[2] Bióloga, mestre em Microbiologia Aplicada, analista da Embrapa Agroenergia, thais.demarchi@embrapa.br.
[3] Engenheira química, mestre em Engenharia Química, Analista da Embrapa Agroenergia, thalyta.pacheco@embrapa.br.
[4] Química, mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos, analista da Embrapa Agroenergia, raquel.campanha@embrapa.br.
[5] Farmacêutica, doutora em Saúde Pública, pesquisadora da Embrapa Agroenergia, simone.mendonca@embrapa.br.
[6] Biólogo, doutor em Biologia Molecular, pesquisador da Embrapa Agroenergia, felix.siqueira@embrapa.br.
[7] Engenheiro-agrônomo, doutor em Fitopatologia, pesquisador da Embrapa Agroenergia, manoel.souza@embrapa.br.

Análise funcional e da diversidade de um consórcio microbiano capaz de degradar lignina

Ísis Viana Mendes[1], Mariana Botelho Garcia[2], Renata Henrique Santana[3], John Gladden[4], Ricardo Henrique Krüger[5], Betania Ferraz Quirino[6]

Resumo

A biomassa lignocelulósica é composta de celulose, hemicelulose e lignina. Dentro do modelo de biorrefinarias, para o melhor aproveitamento da biomassa, faz-se necessária a degradação da lignina, bem como o aproveitamento desta para a produção de bioprodutos. Fungos e bactérias são capazes de degradar a lignina a partir da expressão de enzimas ligninolíticas, sendo a maioria das enzimas caracterizadas de origem fúngica. No presente trabalho, foi analisada a diversidade de quatro consórcios microbianos (os consórcios foram importados legalmente do JBEI, há MTA entre JBEI e Embrapa) obtidos a partir de solo Miracle Growth, cultivados a 30 ºC e 37 ºC, e enriquecidos para microrganismos capazes de utilizar lignina através de sucessivos cultivos em meio de cultura com lignina Kraft ou lignina extraída por método alcalino. Foi realizado o sequenciamento Illumina de iTags da região ITS para fungos, e 16S rDNA para bactérias, para cada um dos seis ciclos de adaptação (passagens). A análise da comunidade microbiana mostrou que a diversidade diminui gradualmente e a comunidade tende a se estabilizar a partir da terceira passagem. Diferentes famílias bacterianas que podem atuar na degradação da lignina foram identificadas: Planococcaceae, Paenibacillaceae e Bacillaceae, do filo Firmicutes; Rhodobacteraceae, Sphingomonadaceae, Methylobacteriaceae, Pseudomonadaceae, Brucellaceae, Burkholderiaceae, Phyllobacteriaceae e Erythrobacteraceae, do filo Protebacterias; Flavobacteriaceae e Chitinophagaceae do filo Bacteroidetes; e Microbacteriaceae e Promicromonosporaceae do filo Actinobacteria. Espécies dos filos Firmicute e Proteobactéria foram favorecidas, respectivamente, pelo enriquecimento com lignina extraída por método alcalino e lignina kraft. Trichosporonaceae, Trichocomaceae e Cephalothecaceae são as principais famílias da comunidade fúngica. Além disso, foram identificados Ciliophoras, que possivelmente desempenharam um papel importante na dinâmica evolutiva da comunidade microbiana. Foi construída uma biblioteca metagenômica com o DNA da sexta passagem de cultivo do consórcio microbiano cultivado a 37 ºC e enriquecido com lignina extraída por método alcalino, BE-lig MG -6P. Para triar uma biblioteca para clones que codifiquem enzimas ligninolíticas, foram utilizadas duas abordagens: uma metodologia funcional, e outra baseada na sequência. A metodologia funcional é baseada no fenótipo das colônias que revelam atividades de enzimas ligninolíticas, sendo capazes de oxidarem reagentes com estruturas homólogas à da lignina. Possiveis clones positivos estão em faze de análise. Na metodologia baseada na sequência, *primers* previamente construídos a partir de domínios conservados de enzimas ligninolíticas já descritas foram utilizados para amplificar fragmentos por reação em cadeia da polimerase (PCR), utilizando o DNA da biblioteca metagenômica BE-lig MG 6P como molde. No total, sessenta sequências foram amplificadas, clonadas em vetor e enviadas para o sequenciamento.

Auxílio Financeiro: Embrapa, FAP-DF, Capes.

Palavras-chave: lignina. enzimas ligninolíticas. consórcio.

[1] Bióloga, mestranda em Biologia Molecular, Universidade de Brasília, isis.mendes@colaborador.embrapa.br.
[2] Bióloga, mestranda em Ciências Genômicas e Biotecnologia, Universidade Católica de Brasília, mariana.garcia@colaborador.embrapa.br.
[3] Bióloga, doutora em Ciências Genômicas e Biotecnologia, Universidade Católica de Brasília.
[4] Bioquímico, doutor em Biologia Molecular e Celular, pesquisador JBEI.
[5] Biólogo, doutor em Microbiologia, professor da Universidade de Brasília, kruger@unb.br.
[6] Bióloga, doutora em Biologia Molecular e Celular, pesquisadora da Embrapa Agroenergia betania.quirino@embrapa.br.

Produção de uma β-expansina de cana-de-açúcar por *Komagataella phaffii*

Jéssica de Sá Guimarães Peixoto[1], Kelly Barreto Rodrigues[2], Gisele Soares Menino[3], Thais Demarchi Mendes[4], Helder Andrey Rocha Gomes[5], Renan Stefanini Lopes[6], Sílvia Belém Gonçalves[7], Fabrício Machado Silva[8], Léia Cecilia de Lima Fávaro[9]

Resumo

As expansinas são proteínas descobertas em plantas e atuam principalmente em processos relacionados às modificações da parede celular vegetal. Essas proteínas atuam no rompimento das ligações não covalentes entre as microfibrilas de celulose, por um mecanismo não enzimático, levando ao afrouxamento e extensão da celulose. Isso facilita o acesso das enzimas lignocelulolíticas à molécula de celulose, aumentando a eficiência da sacarificação enzimática de biomassa lignocelulósica. Devido a essa característica, as expansinas têm sido investigadas quanto à sua aplicação como aditivo em coquetéis enzimáticos para desconstrução de lignocelulose. O genoma da cana-de-açúcar apresenta mais de 90 genes codificadores de expansinas, com expressão gênica diferencial dependendo do tecido e idade das plantas. Estudos anteriores de nosso grupo de pesquisa identificaram genes de expansinas com expressão preferencial em colmos e folhas de plantas de diferentes idades. Nesse contexto, foi levantada a hipótese de que as próprias expansinas de cana-de-açúcar poderiam ser utilizadas como aditivo para desconstrução dessa biomassa. Assim, este trabalho teve por objetivo produzir heterologamente expansinas de cana-de-açúcar previamente identificadas como preferencialmente expressas em colmos adultos. Quatro expansinas candidatas foram selecionadas para produção por *Komagataella phaffii* (linhagem X-33) e para caracterização bioquímica. Os quatro genes de expansinas foram comercialmente sintetizados nos vetores de expressão pGAPZB e pPICZB. Dentre os genes sintetizados, uma β-expansina de cana-de-açúcar foi produzida com sucesso em *K. phaffii* utilizando tanto o vetor pGAPZB quanto o vetor pPICZB. A β-expansina clonada em pPICZB foi submetida a análise funcional por meio de ensaio de ligação à celulose do tipo Avicel PH-101. Os resultados preliminares mostraram que a β-expansina de cana-de-açúcar foi produzida na sua forma funcional, pois foi capaz de se ligar à celulose do tipo Avicel, e que tal procedimento pode ser utilizado para purificação da proteína a partir do sobrenadante do cultivo de *K. phaffii*. Outros ensaios de caracterização bioquímica e funcional estão em andamento. A obtenção de expansinas de cana-de-açúcar heterólogas é inédita e sua caracterização pode contribuir para aprimorar a aplicação biotecnológica das expansinas.

Auxílio Financeiro: Capes, Embrapa (SEG 02.12.11.003.0000).

Palavras-chave: cana-de-açúcar. β-expansina. expressão heteróloga. *Komagataella phaffii*.

[1] Bióloga, doutoranda em Tecnologias Química e Biológica, Universidade de Brasília, jessica.peixoto@colaborador.embrapa.br.
[2] Bióloga, doutora em Biologia Molecular, Universidade de Brasília, kelly.rodrigues@colaborador.embrapa.br.
[3] Bióloga, mestre em Microbiologia, Universidade de Brasília, gisele.soares@colaborador.embrapa.br.
[4] Bióloga, metre em Microbiologia Aplicada, Analista da Embrapa Agroenergia, thais.demarchi@colaborador.embrapa.br.
[5] Biólogo, doutor em Biologia Molecular, Universidade de Brasília, helder.gomes@colaborador.embrapa.br.
[6] Biólogo, mestre em Tecnologias Química e Biológica, Universidade de Brasília, renansl@hotmail.com.
[7] Engenheira química, doutora em Engenharia Química, pesquisadora da Embrapa Agroenergia, silvia.belem@embrapa.br.
[8] Engenheiro químico, doutor em Engenharia Química, Universidade de Brasília, fmachado@unb.br.
[9] Bióloga, doutora em Genética e Melhoramento de Plantas, pesquisadora da Embrapa Agroenergia, leia.favaro@embrapa.br.

Macrobasidiomicetos da biodiversidade amazônica como agentes degradadores de ésteres forbol

Joice Raísa Barbosa Cunha[1], Taisa Godoy Gomes[2], José Antônio de Aquino Ribeiro[3], Eustáquio Souza Dias[4], Ceci Sales-Campos[5], Maria Aparecida de Jesus[6], Simone Mendonça[7], Félix Gonçalves de Siqueira[8]

Resumo

O pinhão-manso é uma oleaginosa com grande potencial para produção de biodiesel, devido ao rendimento e características do óleo. A parte sólida (torta), obtida após a extração do óleo, é rica em proteínas, lipídios e carboidratos, com potencial para dietas de nutrição animal. Entretanto, contém substâncias tóxicas, como os ésteres de forbol, que limitam o seu uso para alimentação animal. A Amazônia é um dos celeiros mundiais quanto à biodiversidade de seres vivos, tais como os fungos filamentosos (macrobasidiomicetos), capazes de formar cogumelos. Os macrobasidiomicetos são amplamente conhecidos e explorados para degradação de compostos xenobióticos, sendo que alguns têm sido investigados, mais recentemente, como potenciais degradadores/destoxificadores de biomassas vegetais. Estes poderiam destoxificar tortas das oleaginosas, para uso seguro em dietas animais. Deste modo, o objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade dos macrobasidiomicetos isolados da biodiversidade amazônica em degradar os ésteres de forbol presentes em torta de semente de pinhão-manso (TSPM) durante a fermentação em estado sólido. Frascos com 40 g de TSPM com 60% de umidade foram autoclavados e posteriormente inoculados e incubados a 28 °C até a miceliação completa do substrato. A biomassa biotransformada foi seca a 60 °C por 48 horas e submetida à extração metanólica dos ésteres de forbol, usando-se método estabelecido no Laboratório de Química de Biomassas da Embrapa Agroenergia. Os macrofungos INPA1646, INPA1694, INPA1695, INPA1711, INPA1725 e INPA1739 apresentaram o melhor desempenho quanto à velocidade de crescimento/micelialização (14 dias). INPA1696 e INPA1735 levaram 20 dias, enquanto que INPA1698 e INPA1719 levaram 22 dias. Os fungos INPA1735 (*Pleurotus* spp.) e INPA1711 *(Panus* spp.) foram os mais eficientes na degradação de ésteres de forbol, com índices acima de 99%. Estes são gêneros aos quais pertencem outras cepas da Coleção da Embrapa Agroenergia (Fungos CMMAABio-Embrapa Agroenergia) já identificadas como degradadoras de ésteres de forbol em TSPM. Os fungos INPA1696 (*Tyromyces* spp.), INPA1719 *(Trametes* spp.), INPA1725 (*Hexagonia hydnoides)* e INPA1646 (*Coriolopsis* spp.) apresentaram índices de degradação ésteres de forbol entre 95% e 97%. As identidades dos fungos devem ser confirmadas por técnicas de moleculares. Novos estudos serão realizados com o *Tyromyces* spp. INPA1696 para caratectização enzimática, bioativos (antioxidantes, betaglucanas) e digestibilidade da biomassa biotransformada.

Auxílio Financeiro: CNPq (404786/2013-8), Capes.

Palavras-chave: fungos filamentosos. pré-tratamento biológico. fermentação em estado sólido. pinhão-manso. biodestoxificação.

[1] Biotecnologista, doutoranda em Microbiologia Agrícola, Universidade Federal de Lavras, joice.raisa@colaborador.embrapa.br.
[2] Biotecnologista, doutoranda em Biologia Molecular, Universidade de Brasília, taisa.gomes@colaborador.embrapa.br.
[3] Farmacêutico industrial, mestre em Ciências Farmacêuticas, analista da Embrapa Agroenergia, jose.ribeiro@embrapa.br.
[4] Agrônomo, doutor em Genética e Melhoramento, professor da Universidade Federal de Lavras, esdias@dbi.ufla.br.
[5] Graduada em Tecnologia Florestal, doutora em Biotecnologia, pesquisadora do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, ceci@inpa.gov.br.
[6] Bióloga, doutora em Ciências Biológicas, pesquisadora do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, ranna@inpa.gov.br.
[7] Farmacêutica e Bioquímica, doutora em Saúde Pública, pesquisadora da Embrapa Agroenergia, simone.mendonca@embrapa.br.
[8] Biólogo, doutor em Biologia Molecular, pesquisador da Embrapa Agroenergia, felix.siqueira@embrapa.br.

Avaliação do potencial de resíduos agroindustriais da produção de biocombustíveis na geração de biogás

Jozomar Ferreira Júnior[1], Guilherme Augusto Colusse[2], Sílvia Belém Gonçalves[4], Simone Mendonça[3], Carmen Luisa Barbosa Guedes[5]

Resumo

A aplicação da vinhaça como matéria-prima para digestão anaeróbia é uma alternativa econômica para seu tratamento devido à grande quantidade atualmente existente e seu potencial de geração de metano. O objetivo principal deste trabalho foi avaliar as características físico-químicas de misturas contendo glicerina e vinhaça frente ao tratamento anaeróbio utilizando pequenos reatores anaeróbios em batelada. O principal efluente, fonte de carbono na digestão anaeróbia, se trata de glicerina fornecida pela empresa BSBIOS, Marialva, PR. Foi utilizada como fonte de nutrientes a vinhaça cedida pela agroindústria USIBAN-Usina de Açúcar e Álcool Bandeirantes S.A., Bandeirantes, PR. Como fonte natural de microbiota, foi utilizada fécula de mandioca. Reatores de borossilicato com capacidade de 250 mL, com tampa de nylon equipados com uma válvula de saída de gás e outra com manômetro para registro de gás produzido. Foram inseridos 100 mL da mistura de glicerina, vinhaça e lodo de fécula de mandioca. Os frascos foram vedados sob uma corrente de gás nitrogênio. A temperatura foi controlada em uma incubadora a 35 °C e o pH ajustado em 7,0. Foi realizado um delineamento de mistura com aplicação da modelagem simplex-centroid com três repetições no ponto central utilizando o *software Statistica® 7.0*. Foi aplicado o modelo cúbico para obtenção dos gráficos de curvas de níveis e gráfico de Pareto, bem como as equações e análises estatísticas. A aplicação do modelo simplex-centroid resultou em sete tratamentos contendo três repetições no ponto central. Após a fermentação, na vinhaça foram detectados 2,2% de sólidos totais. A análise de sólidos totais voláteis na vinhaça indicou valor igual a 1,51%, podendo, assim, ser descartada no ambiente. Os sólidos totais fixos na vinhaça após a digestão aeróbia foi correspondente a 0,69%. Os valores de pH estiveram na faixa entre 6,8 e 7,2 após a digestão anaeróbia em todos os tratamentos, garantindo, assim, uma ótima conversão das matérias-primas no processo de fermentação da vinhaça e glicerina. A digestão anaeróbia em batelada durante 15 dias produziu 283 mL de biogás a partir da composição inicial de 93,33% da microbiota de fécula de mandioca, 3,33% de glicerina e 3,33% de vinhaça, em que foram detectados 74% de metano em mistura com o biogás. As atividades de pesquisa do grupo seguem neste momento com a digestão anaeróbia do POME, efluente da extração do óleo de palma.

Auxílio Financeiro: Finep (01.13.00315.00).

Palavras-chave: vinhaça. glicerina. microbiota de fécula. fermentação. POME.

[1] Engenheiro ambiental, mestrando em Bioenergia, Universidade Estadual de Londrina, jozomar@uel.br.
[2] Biotecnologista, mestre em Bioenergia, Universidade Estadual de Londrina, guilherme_sp_92@hotmail.com.
[3] Engenheira química, doutora em Engenharia Química, pesquisadora da Embrapa Agroenergia, silvia.belem@embrapa.br.
[4] Farmacêutica, doutora em Saúde Pública, pesquisadora da Embrapa Agroenergia, simone.mendonca@embrapa.br.
[5] Química, doutora em Química Orgânica, professora da Universidade Estadual de Londrina, carmen@uel.br.

Análise cienciométrica da literatura científica global sobre o potencial nutricional e biotecnológico de Agaricomycetes

Laiza Rosa Rezende Naves das Mercês[1], Lucas Leonardo da Silva[2], Élida Lúcia da Cunha[3], Félix Gonçalves de Siqueira[4], Solange Xavier dos Santos[5]

Resumo

Entre os fungos da classe Agaricomycetes (Agaricomycotina: Basidiomycota), são encontradas muitas espécies de grande importância econômica, seja pelo seu potencial alimentício, medicinal, nutricional, biorremediador, entre vários outros. Este trabalho apresenta uma análise cienciométrica da produção científica global sobre as propriedades nutricionais e biotecnológicas desses basidiomicetos. Os dados foram obtidos a partir de um levantamento das publicações indexadas na base de dados "Web of Science" entre 1955 e 2017, usando os termos de busca "mushroom OR basidiom* andbiotechnolo* OR nutritio*". Foram encontrados 1.705 artigos, dos quais 1.193 atendiam aos requisitos da pesquisa. A distribuição temporal desses artigos mostrou um aumento exponencial das publicações a partir do ano 2000, com destaque para os últimos cinco anos, que concentram 50% do total de publicações. Os artigos se distribuem em 478 periódicos, com destaque para os cinco que mais publicaram, detendo 22% do total de publicações; cerca de 38% dos periódicos apresentam uma única publicação. Foram citadas 572 espécies, sendo que 64,7% delas são citadas uma única vez. Merecem destaque *Pleurotusostreatus* (Jacq.) P. Kumm, *Agaricusbisporus* (J.E. Lange) Imbache e *Lentinulaedodes* (Berk.) Pegler, que representam 8,0%, 5,0% e 4,5% do total, respectivamente; essas são também as espécies mais consumidas como alimento. Dos 76 países sede das pesquisas, a China se destaca, com uma frequência de 11% do total, seguida pelo Brasil (8,3%) e Índia (7,7%). De um total de 3.878 autores, 83% respondem por um único artigo; os três autores mais frequentes (Ferreira, ICFR; Barros, L e Martins, A) são responsáveis por 11% das publicações e estão sediados em Portugal. A análise de componentes principais mostrou uma tendência na mudança de foco das publicações das áreas de microbiologia, agricultura, meio ambiente e nutrição para as áreas de biotecnologia, bioquímica e química. Conclui-se que as publicações a respeito de ambos os potenciais têm crescido principalmente nos últimos anos, em especial os estudos em biotecnologia. É perceptível um grande investimento em pesquisas por parte da China, do Brasil e da Índia. Muitas espécies estão sendo estudadas, principalmente as mais produzidas comercialmente e, entre os autores, os que mais publicam são os portugueses.

Auxílio Financeiro: Capes, Fapeg, CNPq/INCT.

Palavras-chave: Tendências de publicação. produção científica. fungos. nutracêutica. macromicetos.

[1] Bióloga, mestranda em Recursos Naturais do Cerrado, bolsista Capes, Universidade Estadual de Goiás (FungiLab/UEG/CCET), laiza.rosass@gmail.com.
[2] Biólogo, mestre em Ciências Aplicadas a Produtos para Saúde, bolsista AT/CNPq INCT/HVFF, Universidade Estadual de Goiás (FungiLab/UEG/CCET).
[3] Bióloga, mestranda em Recursos Naturais do Cerrado, bolsista Fapeg, Universidade Estadual de Goiás (FungiLab/UEG/CCET).
[4] Biólogo, doutor em Ciências Biológicas (Biologia Molecular), pesquisador da Embrapa Agroenergia, felix.siqueira@embrapa.br.
[5] Bióloga, doutora em Microbiologia Aplicada, docente, Universidade Estadual de Goiás (FungiLab/UEG/CCET), solange.xavier@ueg.br.

Imobilização sequencial de enzimas celulolíticas

Mariana Bisinotto Pereira[1], Bruno Lemos Nogueira[2], Dasciana de Sousa Rodrigues[3], Inti Doraci Cavalcanti Montano[4], Carlos Alberto Galeano Suarez[5]

Resumo

A imobilização de enzimas é uma estratégia utilizada para reduzir o custo da aplicação destes biocatalisadores, pois aumenta a sua estabilidade e permite a sua recuperação e reuso. Para atingir a hidrólise completa da celulose utilizando enzimas, é necessário um coquetel composto por pelo menos 17 enzimas diferentes. A imobilização simultânea dessas enzimas é um dos maiores desafios nessa área de conhecimento. Neste trabalho, o objetivo foi avaliar uma nova estratégia para a imobilização de enzimas celulolíticas, ainda não descrita na literatura científica. A nova estratégia consistiu em imobilizar uma parte das enzimas por precipitação e entrecruzamento e outra parte por ligação covalente direta sobre os aglomerados formados na primeira etapa de imobilização. A precipitação e entrecruzamento causa a inativação de algumas enzimas, logo na imobilização sequencial somente parte dessas enzimas é precipitada, e servirão como suporte, enquanto que as enzimas imobilizadas na etapa seguinte terão mais chance de manter sua atividade catalítica, visto que serão submetidas a um processo de imobilização mais brando. Para preparar os aglomerados, foi utilizado Cellic Ctec 3 (produto comercial). As enzimas foram precipitadas usando isopropanol e, em seguida, os aglomerados foram entrecruzados com glutaraldeído para evitar sua fragmentação durante o uso e também para ativar a superfície desse agregado para o recebimento posterior das demais enzimas. Após a imobilização, o biocatalisador foi exaustivamente lavado com tampão citrato, pH 5. O desempenho desse biocatalisador foi avaliado na hidrólise de bagaço de cana-de--açúcar pré-tratado por organosolv, em reator encamisado com 2,5% de sólido. A concentração de glicose liberada nesse ensaio foi de 1,25 g/L de glicose, o que corresponde a um rendimento de 6,71%. O baixo rendimento de hidrólise pode ter sido resultante de vários fatores, como, por exemplo: (i) inativação das enzimas durante a formação dos aglomerados; (ii) dificuldade de acesso dos substratos aos sítios catalíticos; (iii) a baixa atividade inicial das enzimas presentes no aglomerado, (iv) pequena quantidade de enzimas ativas na superfície dos aglomerados ou imobilização inadequada dessas enzimas, ou uma combinação desses fatores. Conclui-se que o biocatalisador desenvolvido usando a metodologia descrita acima não foi eficaz para a hidrólise da biomassa, e que é necessário o aprimoramento da metodologia por meio da utilização de outras enzimas e ajustes nas condições de imobilização.

Auxílio Financeiro: Embrapa e Capes.

Palavras-chave: celulases. imobilização. hidrólise.

[1] Engenheira química, mestranda em Engenharia Química, Universidade Federal de Goiás, mariana.bisinotto@colaborador.embrapa.br.
[2] Engenheiro químico, pós-doutorando, Universidade Federal do Rio de Janeiro, bruno.nogueira@colaborador.embrapa.br.
[3] Química industrial, pesquisadora da Embrapa Agroenergia, dasciana.rodrigues@embrapa.br.
[4] Engenheira química, professora da Universidade Federal de Goiás, intidoca@gmail.com.
[5] Engenheiro químico, professor da Universidade Federal de Goiás, carlogalen21@gmail.com.

Diversidade microbiana e degradação de lignina em cultura enriquecida

Mariana Botelho Garcia[1], Ísis Viana Mendes[2] Renata Henrique Santana[3], Ricardo Henrique Kruger[4], John Gladden[5], Betania Ferraz Quirino[6]

Resumo

A produção de biocombustíveis tem sido um assunto bastante discutido no mundo e no Brasil, principalmente quando esta é realizada a partir do material lignocelulósico. Esse material é formado basicamente de celulose, hemicelulose e lignina. Porém, neste contexto, sabe-se que apenas as duas primeiras são utilizadas na produção de biocombustíveis, restando a lignina, que é uma matriz heteropolimérica complexa e acaba sendo queimada por ser de difícil bioconversão. Existem alguns fungos e bactérias já descritos na literatura que são capazes de degradar compostos aromáticos ou até mesmo a própria lignina. Contudo, a diversidade microbiana vai muito além do que conhecemos dentro do laboratório, pois alguns microrganismos não são cultiváveis. Neste trabalho foram produzidos consórcios microbianos, provenientes do JBEI, enriquecidos para microrganismos capazes de degradar lignina a partir da comunidade presente no solo de jardim, coletado em Emeryville, CA EUA. Os consórcios foram construídos a partir do inóculo do solo em meio mínimo M9 com lignina Kraft ou lignina extraída por método alcalino como fonte de carbono, em duas temperaturas (30 ˚C ou 37 ˚C). A cada duas semanas, uma alíquota foi transferida para um novo meio, perfazendo-se seis passagens. O objetivo deste trabalho foi avaliar e comparar a diversidade bacteriana e fúngica encontrada nas sucessivas passagens durante esse enriquecimento para organismos capazes de degradar lignina. Para tal, foram obtidas amostras de DNA das sucessivas passagens e foi realizado sequenciamento Illumina de iTags para V4-V5 do 16S rDNA de bactérias e para a região ITS2 de fungos. A caracterização e comparação da diversidade microbiana existente nas diferentes passagens foram realizadas por meio de análise de bioinformática das sequências obtidas. Concluiu-se que o solo original se mostrava extremamente diverso e que, conforme as passagens foram ocorrendo, a diversidade diminuiu e os microrganismos ali presentes tornaram-se específicos de acordo com o substrato e a temperatura. Analisando o impacto dessas variáveis em cada comunidade, observou-se que o substrato foi um fator de grande relevância na diferenciação das comunidades, enquanto que a temperatura provocou uma diferenciação de menor impacto. Pode ser observado que ocorreu uma seleção dentro das comunidades, favorecendo as famílias que eram, segundo outros trabalhos já publicados, capazes de degradar lignina, demonstrando que o enriquecimento foi suficiente para selecionar microrganismos capazes de degradar lignina presentes no solo de jardim.

Auxílio Financeiro: Embrapa, FAP-DF, Capes.

Palavras-chave: consórcio microbiano. lignina. diversidade bacteriana.

[1] Biotecnologista, mestranda em Ciências Genômicas e Biotecnologia, Universidade Católica de Brasília, mariana.garcia@colaborador.embrapa.br.
[2] Bióloga, mestranda em Biologia Molecular, Universidade de Brasília, isis.mendes@colaborador.embrapa.br.
[3] Bióloga, doutora em Ciências Genômicas e Biotecnologia, professora do Instituto Federal de Brasília, renatarhs@gmail.com.
[4] Biólogo, doutor em Microbiologia, professor da Universidade de Brasília, kruger@unb.br.
[5] Biólogo, doutor em Biologia Molecular e Celular, professor do Joint Bioenergy Institute, jmgladden@lbl.gov.
[6] Bióloga, doutora em Biologia Molecular e Celular, pesquisadora da Embrapa Agroenergia, betania.quirino@embrapa.br.

Transformação de *Trichoderma harzianum* BRM27158 por *Agrobacterium tumefaciens* e caracterização de uma biblioteca de transformantes

Mariana Santos Tamietti[1], Gláucia Emy Okida Midorikawa[2], Paula Marcela Duque Jaramillo[3], Débora Costa da Cunha[4], Joana Flor Rattes Nunes[5], Léia Cecilia de Lima Fávaro[6], Eliane Ferreira Noronha[7]

Resumo

O controle biológico de pragas e doenças de plantas tem se mostrado uma alternativa promissora para a diminuição do uso intensivo de pesticidas e fungicidas. Nesse contexto, fungos do gênero *Trichoderma* se destacam como um dos organismos mais utilizados para o controle de fitopatógenos, sendo agentes antagonistas em produtos comerciais para biocontrole. Neste trabalho, buscou-se identificar e caracterizar genes de *Trichoderma harzianum* BRM27158 envolvidos na interação com fungos fitopatogênicos. Para tanto, foi construída uma biblioteca de transformantes por meio de transformação mediada por *A. tumefaciens* com o vetor binário pFAT-GFP. Este método permite a ocorrência de inserções aleatórias do T-DNA (contendo os genes *hph* como marcador seletivo e *gfp* como repórter) no genoma do fungo. A biblioteca foi purificada por cultivo monospórico e as linhagens foram avaliadas quanto à estabilidade genética por até 6 gerações. Em seguida, os transformantes foram caracterizados quanto à produção de proteases (enzimas essenciais na atividade antagonista de *Trichoderma* spp.) em comparação com a cepa parental, em testes em cultivo submerso. A confirmação da transformação foi realizada por PCR com primers específicos para os genes *hph* e *gfp*. As linhagens selecionadas tiveram as regiões flanqueadoras do T-DNA amplificadas por TAIL-PCR, clonadas, sequenciadas e avaliadas contra a sequência genômica anotada da cepa BRM27158. Foram obtidos 168 transformantes resistentes à higromicina. Todos os transformantes avaliados permaneceram estáveis após 6 gerações de cultivo na ausência do agente seletivo (higromicina). A análise da região flanqueadora da borda esquerda do T-DNA de um dos transformantes revelou que a inserção ocorreu em um gene que codifica uma peptídeo sintase não ribossômica (NRPS), a qual é envolvida na produção de metabólitos secundários com atividade biológica. No entanto, este transformante não apresentou diferenças relevantes quanto à produção de proteases em comparação com a cepa parental. A análise do metaboloma desse transformante em comparação com a cepa parental poderá futuramente auxiliar a identificação do metabólito peptídico produzido pela NRPS nocauteada. Os resultados em conjunto mostram que a biblioteca obtida e caracterizada constitui uma rica fonte para estudos de caracterização funcional de genes envolvidos na interação com patógenos e ainda desconhecidos para *T. harzianum*.

Auxílio Financeiro: Capes e CNPq.

Palavras-chave: controle biológico. transformação mediada por *Agrobacterium*. Trichoderma. NRPS.

[1] Bióloga, mestranda em Biologia Molecular, Universidade de Brasília, marianasantostamietti@gmail.com.
[2] Bióloga, doutora em Biologia Molecular, colaboradora da Embrapa Agroenergia, glauciaemy@gmail.com.
[3] Bióloga, doutora em Biologia Molecular, Universidade de Brasília, jaramillo526@gmail.com.
[4] Bióloga, mestranda em Biologia Microbiana, Universidade de Brasília, debora.costa@gmail.com.
[5] Bióloga, mestranda em Biologia Microbiana, Universidade de Brasília, jorattes@gmail.com.
[6] Bióloga, doutora em Genética e Melhoramento de Plantas, pesquisadora da Embrapa Agroenergia, leia.favaro@embrapa.br.
[7] Bióloga, doutora em Biologia Molecular, professora da Universidade de Brasília, elinoronha@gmail.com.

Estudos sobre a obtenção de ácido lático por processo fermentativo

Raissa Gabriela Martins Reis Barroso[1], Jamille Ribeiro Coelho de Lima[2], Thályta Fraga Pacheco[3], Sílvia Belém Gonçalves[4], Fabrício Machado Silva[5]

Resumo

Grande parte dos polímeros é produzida a partir do petróleo e fibras sintéticas. Tais materiais são dependentes de matéria-prima não renovável e necessitam de longos períodos de tempo para a sua degradação. Com isso, há um interesse industrial crescente no desenvolvimento de polímeros biodegradáveis. O poli(ácido lático) – PLA é um material de interesse na área científica, por ser um polímero biodegradável e já ser utilizado na área biomédica. Este trabalho teve como objetivo principal a produção de ácido lático por via fermentativa utilizando como microrganismo bactérias do gênero *Klebsiella*. As bactérias foram coletadas das linhagens da Coleção de Microrganismos isolados de solos contaminados com glicerina padrão e bruta – Cesbra (65% de pureza) da Fazenda Sucupira. O processo fermentativo foi feito utilizando glicerol, subproduto da indústria de biodiesel, como fonte de carbono para produção de produtos químicos de alto valor agregado (ácido lático). Inicialmente foram realizados experimentos com bactérias *Klebsiella* para verificar seu comportamento em um sistema fermentativo com glicerol. Esses testes consistiram em avaliar sistemas aeróbicos e anaeróbicos, em diferentes escalas, uma vez que o microrganismo é anaeróbico facultativo. Verificou-se que o microrganismo produziu melhor o ácido lático em condições anaeróbicas de fermentação. Em seguida, um planejamento experimental foi realizado para observar os efeitos que a concentração de inóculo, pH e temperatura têm sobre o consumo de glicerol, produção de ácido lático. Em temperaturas mais elevadas e pHs mais básicos, observaram-se maiores produções de ácido lático. A concentração de inóculo mostrou-se pouco significante para a produção de ácido lático. O melhor rendimento obtido para produção de ácido lático foi para fermentação em minirreatores, em que 92,5% do glicerol foi convertido em 3,8 g/L de ácido lático. Para as fermentações em tubos do tipo Falcon, 2,9 g/L de ácido lático foram produzidos no experimento de melhor conversão. Em experimentos utilizando Erlenmeyers, foram obtidas concentrações de até 3,3 g/L de ácido lático. Foi possível produzir ácido lático a partir dos testes de fermentação realizados, mostrando que a *Klebsiella* é um microrganismo com potencial para produzir químicos de alto valor agregado utilizando um subproduto como fonte de carbono.

Auxílio Financeiro: Finep (01.13.00315.00).

Palavras-chave: ácido lático. fermentação. glicerol. polímeros biodegradáveis. *Klebsiella*.

[1] Química industrial, mestranda em Química, Universidade de Brasília,raissa.barroso@colaborador.embrapa.br.
[2] Bióloga, doutora em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Universidade Ferderal do Rio de Janeiro, jamillerc@yahoo.com.br.
[3] Engenheira química, mestre em Engenharia Química, analista da Embrapa Agroenergia, thalyta.pacheco@embrapa.br.
[4] Engenheira química, doutora em Engenharia Química, pesquisadora da Embrapa Agroenergia, silvia.belem@embrapa.br.
[5] Engenheiro químico, doutor em Engenharia Química, Universidade de Brasília, fmachado@unb.br.

Isolamento de leveduras endofíticas de folhas de melancia e seu potencial biotecnológico

Taís Aragão Ishizawa[1], Gláucia Emy Okida Midorikawa[2], Fabrício Souza Campos[3], Bruno Coelho Parrião[4], Léia Cecilia de Lima Fávaro[5], Raimundo Wagner de Souza Aguiar[6]

Resumo

Os microrganismos endofíticos são encontrados em todas as espécies conhecidas de plantas e são parte importante do microbioma vegetal. Eles são definidos como aqueles que habitam o interior dos tecidos vegetais sem induzir sintomas de doenças e sem produzir estruturas externas visíveis. Seu estudo ganha cada vez mais destaque pela descoberta de novas espécies microbianas e pela sua importância na obtenção de produtos com aplicações biotecnológicas. Entretanto, pouco se sabe sobre os microrganismos endofíticos associados à cultura da melancia (*Citrullus lanatus*). Diante disso, o objetivo deste trabalho foi isolar e identificar leveduras endofíticas associadas às folhas de melancia e avaliar seu potencial de inibição do crescimento de fungos fitopatogênicos. As amostras foram obtidas de plantas do projeto Rio Formoso, no Município de Formoso do Araguaia, TO. O isolamento das leveduras foi realizado pelos procedimentos de fragmentação e trituração, testando-se quatro condições de desinfecção superficial a fim de se obter isolados endofíticos. A caracterização molecular foi realizada pela amplificação por PCR do domínio D1/D2 da região 26S do DNA ribossômico seguida do sequenciamento e análise filogenética em comparação com sequências de bancos de dados curados (GenBank, RDP, Mycobank, CBS). Os isolados TAIL-63, TAIL-66 e TAIL-99 foram avaliados em ensaios de antagonismo contra os fungos fitopatogênicos *Alternaria* sp., *Curvularia lunata*, *Didymella* sp., *Fusarium* sp., *Macrophomina* sp., *Pyricularia oryzae*, *Rhizoctonia solani* e *Sclerotinia sclerotirum*. Como resultados, foram obtidas 195 leveduras endofíticas das folhas de melancia, das quais 90 foram classificadas em 4 gêneros, todos do filo Basidiomycota, consistindo nas espécies *Pseudozyma aphidis*, *Pseudozyma antarctica*, *Bulleromyces albus* e *Sporidiobolus pararoseus*, com predominância para esta última. O isolado TAIL-63 (*Pseudozyma antarctica*) apresentou atividade de antagonismo para os fungos *S. sclerotirum*, *Alternaria* sp., *C. lunata*, *R. solani* e *P. oryzae*. O patógeno *P. oryzae* também foi inibido pelos isolados TAIL-95 (*Hannaella sinensis*) e TAIL-66 (*Sporidiobolus pararoseus*). As folhas de melancia apresentam espécies de leveduras de interesse biotecnológico, como antagonistas a fitopatógenos, possibilitando o seu uso futuro no desenvolvimento de bioprodutos.

Auxílio Financeiro: Capes e CNPq.

Palavras-chave: endófitos. *Citrullus lanatus*. leveduras.

[1] Engenheira de alimentos, mestre em Biotecnologia, Universidade Federal do Tocantins, taisaragao@hotmail.com.
[2] Bióloga, doutora em Ciências Biológicas (Biologia Molecular), Universidade de Brasília, colaboradora na Embrapa Agroenergia, glaucia.midorikawa@colaborador.embrapa.br.
[3] Médico-veterinário, doutor em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Tocantins, camposvet@uft.edu.br.
[4] Engenheiro agrícola, mestrando em Biotecnologia, Universidade Federal do Tocantins, coautor@colaborador.embrapa.br.
[5] Bióloga, doutora em Ciências, pesquisadora da Embrapa Agroenergia, leia.favaro@embrapa.br.
[6] Agrônomo, doutor em Biologia Molecular, Universidade Federal do Tocantins, rwsa@uft.edu.br.

Desenvolvimento de protocolo para imagem química por espectrometria de massas de metabólitos--microrganismos

Tallyta Santos Teixeira[1], Jorge Candido Rodrigues Neto[2], Pedro Alves Martins[3], Elias Alves da Silva[4], Patrícia Pinto Kalil Gonçalves Costa[5], Thaís Fabiana Chan Salum[6], Félix Gonçalves de Siqueira[7], Patrícia Verardi Abdelnur[8]

Resumo

A complexa interação dos microrganismos entre si e com o ambiente é mediada por diversos metabólitos, que têm muitas aplicações industriais. Nesse contexto, a imagem química por espectrometria de massas pode auxiliar estudos de prospecção de novos compostos por permitir informações complementares através da determinação espacial dos metabólitos. Dentre as técnicas utilizadas, tem-se a MALDI-IMS (*Matrix-assisted Laser Desorption/Ionization – Imaging Mass Spectrometry*), que exige desenvolvimento de métodos adequados para o preparo e análise da amostra. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi desenvolver um protocolo para MALDI-IMS de metabólitos em microrganismos. Foram testadas formas de inoculação (contato e suspensão), cultivo do microrganismo (direto na lâmina para MALDI-IMS e por transferência), tipo de matriz (DHB e HCCA) e forma de aplicação da matriz escolhida (por sublimação, seguida ou não de recristalização com ácido acético 5%, e por micropipeta). A bactéria CNPAE 99 (579) da coleção "Microrganismos e Microalgas Aplicados à Agroenergia e Biorrefinarias" (CMMAABio) foi cultivada em placas de Petri por 24 h a 28 °C. Em seguida, o material foi desidratado por 2 h, submetido à aplicação de matriz e analisado por MALDI-IMS. Percebeu-se que a inoculação realizada por suspensão permitiu um crescimento mais uniforme e reprodutível da colônia se comparado com o contato direto. A forma de cultivo diretamente na lâmina para MALDI-IMS foi mais eficaz do que a transferência da colônia para esta, devido à facilidade do manuseio do material biológico. Ao comparar as matrizes, observou-se que o DHB aplicado por sublimação permitiu uma rápida (5 min) e uniforme deposição da matriz. Porém, nenhuma imagem química de metabólitos foi obtida nessa condição. Já a utilização de HCCA acarretou em uma lenta (20 min) e uniforme deposição de matriz sobre as amostras. Neste caso, seis íons (*m/z* 520,1; 524,4; 563,4; 568,6; 591,9 e 625,5) tiveram sua localização química determinada. Destes, o íon *m/z* 568,6 refere-se à matriz HCCA e os demais íons serão investigados por UHPLC-MS/MS. A matriz HCCA apresentou melhores resultados e por isso foi testada quanto à forma de aplicação, avaliando a distribuição espacial do íon *m/z* 568,6 em cada método. Dentre os métodos avaliados, a aplicação do HCCA por sublimação apresentou uma distribuição uniforme em toda amostra, enquanto os demais métodos apresentaram localização pontual. Uma otimização de parâmetros instrumentais se faz necessária para esse protocolo, porém o MALDI-IMS se mostra promissor para fins de prospecção de novos metabólitos de microrganismos.

Auxílio Financeiro: Capes.

Palavras-chave: MALDI-IMS. metabolômica. microrganismos.

[1] Engenheira de Bioprocessos e Biotecnologia, doutoranda em Química, Universidade Federal de Goiás, tallyta.santos@colaborador.embrapa.br.
[2] Químico, doutorando em Química, Universidade Federal de Goiás, jorge.rodrigues@colaborador.embrapa.br.
[3] Biólogo, doutorando em Biologia Microbiana, Universidade de Brasília, pedro.alves@colaborador.embrapa.br.
[4] Biólogo, doutorando em Biotecnologia Vegetal, Universidade Federal de Lavras, elias.silva@colaborador.embrapa.br.
[5] Química, mestre em Química Orgânica, analista da Embrapa Agroenergia, patricia.costa@embrapa.br.
[6] Farmacêutica, doutora em Bioquímica, pesquisadora da Embrapa Agroenergia, thais.salum@embrapa.br.
[7] Biólogo, doutor em Ciências Biológicas (Biologia Molecular), pesquisador da Embrapa Agroenergia, felix.siqueira@embrapa.br.
[8] Química, doutora em Química Orgânica, pesquisadora da Embrapa Agroenergia, patricia.abdelnur@embrapa.br.

Parâmetros germinativos em sementes de *Solanum lycopersicum* com substratos à base de resíduos da fungicultura

Vandinelma de Oliveira Vieira[1], Euziclei Gonzaga de Almeida[2], Aparecido Almeida Conceição[3], Murillo Lobo Junior[4], Fabio Bueno dos Reis Junior[5], Simone Mendonça[6], Félix Gonçalves de Siqueira[7]

Resumo

A fungicultura voltada para a produção de cogumelos comestíveis gera em média 5 Kg de resíduos (*Spent Mushrom Substrate* - SMS) para cada quilo de cogumelo fresco colhido. Deste modo, faz-se necessário reutilizar esse "resíduo", que tem se tornado um problema ambiental em alguns locais. Já existem estudos que comprovam o potencial de reutilização de SMS em diversos segmentos industriais ou agrícolas. Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o SMS como substratos na produção de mudas de tomate (*Solanum lycopersicum*). O experimento foi realizado no Núcleo de Apoio às Culturas Energéticas da Embrapa Agroenergia. A condução do experimento foi com substratos à base de SMS dos cogumelos *Pleorotus ostreatus* e *Agaricus bisporus,* em estufa com irrigação três vezes ao dia por 15 minutos em microasperssão e manutenção da umidade em 60%, temperatura variando entre 26 °C e 30 °C. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso com 11 tratamentos, 3 repetições de 32 plântulas, com avaliação de parâmetros germinativos, sendo: germinação (G), índice de velocidade de emergência (IVE), tempo médio de germinação (TMG) e velocidade média de germinação (VMG). Todos os resultados obtidos foram comparados estatisticamente ao controle composto por substrato comercial Carolina Soil. Houve germinação das sementes em todos os tratamentos estudados com destaque de 100% para os tratamentos T3 (substratos para produção de *Agaricus* sp.), T6 (SMS de *Pleurotus* sp. + *bactéria-X*), T7 (SMS *Pleurotus* sp. + camada de cobertura *Agaricus* sp.), T8 (compostagem de SMS *Pleurotus* sp. aerada) e T9 (compostagem de SMS *Pleurotus* sp. não aerada). Para o IVE, os substratos que proporcionaram um melhor índice de emergência ao longo de 17 dias de avaliação (até o momento do desbaste), foram os mesmos citados para germinação. Para os índices TMG e VGM, somente os tratamentos T6, T7 e T8 obtiveram valores baixos de TMG e altos para VGM se destacando como promissores, já que esses índices são inversamente proporcionais. Assim, considerada a qualidade fisiológica da semente e a sua capacidade de desempenhar funções vitais, caracterizadas pela germinação, vigor e longevidade, os resultados obtidos nos parâmetros germinativos avaliados permitem inferir que os tratamentos T3, T6, T7, T8 e T9 se destacam como uma alternativa promissora para produção de plântula de tomate, pois proporcionaram a maior G, IVG, VMG e menor TMG, mostrando-se promissor na produção de mudas, podendo reduzir o tempo de produção e o custo final com a reutilização de SMS.

Auxílio Financeiro: Finep, Capes-Fapemat, Fapesb.

Palavras-chave: fungicultura. SMS – spent mushroom. hortifruti substratos.

[1] Engenheira-agrônoma, doutoranda em Biotecnologia e Biodiversidade, Rede Pró Centro Oeste- Universidade Federal de Mato Grosso, vandinelma.vieira@colaborador.embrapa.br.
[2] Professor adjunto, Instituto de Biociências e Departamento de Botânica e Ecologia, Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiába, euziclei@yahoo.com.br.
[3] Biotecnologista, mestre em Biociências, Universidade Federal da Bahia,CIDO1991@hotmail.com.
[4] Engenheiro-agrônomo, doutor em Fitopatologia, pesquisador da Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, murillo.lobo@embrapa.br.
[5] Engenheiro-agrônomo, doutor em Agronomia, pesquisador da Embrapa Cerrados, fabio.reis@embrapa.br.
[6] Farmacêutica, doutora em Saúde Pública, pesquisadora da Embrapa Agroenergia, simone.mendonca@embrapa.br.
[7] Biólogo, doutor em Ciências Biológicas (Biologia Molecular), pesquisador da Embrapa Agroenergia, felix.siqueira@embrapa.br.

Identificação de microrganismos contaminantes de blenda biodiesel/diesel (B7) no Distrito Federal durante estocagem simulada

Artur Fiuza Borges Arantes[1], Mariana Santos Tamietti[2], Patrícia Portela de Medeiros Brunale[3], Betulia de Moraes Souto[4], Paula Fernandes Franco[5], Betania Ferraz Quirino[6], Itânia Pinheiro Soares[7], Léia Cecilia de Lima Fávaro[8]

Resumo

No Brasil, o monitoramento da qualidade do biodiesel por meio de ensaios físico-químicos é feito na usina e postos de combustíveis, quando em mistura com o diesel. Os efeitos deletérios da ação microbiana nos combustíveis líquidos são amplamente reconhecidos. Nesse aspecto, diferentes entidades e órgãos brasileiros têm unido esforços para elaborar documentos orientadores sobre requisitos para prevenção, monitoramento e controle de microrganismos em combustíveis líquidos e nos sistemas associados. Entretanto, tais iniciativas ainda não são de domínio público, ou seja, a legislação brasileira ainda não exige o controle da qualidade microbiana dos combustíveis. A utilização de técnicas baseadas em cultivo microbiano acompanhada de identificação taxonômica por meio da análise do DNA pode auxiliar o entendimento do impacto dos microrganismos na biodeterioração e na qualidade dos combustíveis. Nesse contexto, buscou-se determinar as comunidades microbianas cultiváveis contaminantes em amostra de blenda biodiesel/diesel (B7) coletada em posto de combustível no Distrito Federal. A amostra foi submetida a estocagem simulada em protótipos de tanques de 20 litros. A partir dos tanques, foram coletadas amostras após 0, 30, 60 e 90 dias de armazenamento. Cada amostra foi filtrada e alíquotas foram inoculadas em meios de cultura apropriados para o isolamento de bactérias, fungos filamentosos e leveduriformes. Os microrganismos foram purificados e preservados na "Coleção de Microrganismos e Microalgas Aplicados a Agroenergia e Biorrefinarias" da Embrapa Agroenergia. Os microrganismos foram submetidos à extração de ácidos nucleicos e à identificação taxonômica por meio de análise das sequências 16S do rDNA e DNA-gyrase (bactérias) e região ITS1-5.8S-ITS2 do rDNA (fungos filamentosos). Ao todo, foram isoladas 109 bactérias e 197 fungos filamentosos. Nenhum fungo leveduriforme foi recuperado. As bactérias identificadas até o momento pertencem ao filo Firmicutes, especialmente ao gênero *Bacillus* (*B. licheniformis, B. safensis, B. subtilis, B. amyloliquefaciens, B. tequilensis, B. cereus*), com predominância das espécies *B. safensis* e *B. amyloliquefaciens.* Já os fungos identificados até o momento pertencem predominantemente ao gênero *Aspergillus*. Estudos de correlação entre dados microbiológicos e análises químicas das amostras estão em andamento e poderão fornecer uma visão mais detalhada do papel dos microrganismos durante o armazenamento simulado do combustível. Com o avanço da legislação brasileira sobre qualidade de combustíveis, é possível que o monitoramento da densidade microbiana possa configurar um futuro parâmetro de caracterização e controle da qualidade dos combustíveis líquidos. Assim, análises semelhantes às utilizadas no presente trabalho são importantes para estimativa dos impactos gerados pela contaminação microbiana em sistemas de armazenamento.

Auxílio Financeiro: CNPq.
Palavras-chave: fungos. bactérias. biocombustíveis. DNA-ribossômico. biodeterioração. *Bacillus*.

[1] Graduando em Ciências Farmacêuticas, Universidade de Brasília, artur.arantes@colaborador.embrapa.br.
[2] Bióloga, mestranda em Biologia Molecular, Universidade de Brasília, mariana.tamietti@colaborador.embrapa.br.
[3] Química, mestre em Tecnologias Química e Biológica, ANP, patybrunale@globo.com.
[4] Bióloga, mestre em Biologia Molecular, analista da Embrapa Agroenergia, betulia.souto@embrapa.br.
[5] Bióloga, mestre em Biologia Molecular, analista da Embrapa Agroenergia, paula.franco@embrapa.br.
[6] Bióloga, doutora em Biologia Molecular, pesquisadora da Embrapa Agroenergia, betania.quirino@embrapa.br.
[7] Química, doutora em Química, pesquisadora da Embrapa Agroenergia, itania.soares@embrapa.br.
[8] Bióloga, doutora em Ciências Biológicas, pesquisadora da Embrapa Agroenergia, leia.favaro@embrapa.br.

Enzimas desconstrutoras de parede celular vegetal secretadas por macrobasidiomicetos cultivados em cacho vazio de dendê

Dulce Cristine dos Santos[1], Elias Alves da Silva[2], Thais Demarchi Mendes[3], Thályta Fraga Pacheco[4], Manoel Teixeira de Souza Junior[5], Simone Mendonça[6], Félix Gonçalves de Siqueira[7]

Resumo

O óleo de dendê (óleo de palma) é um produto de grande importância econômica mundial, tendo mais de 90% da sua produção no Brasil localizada no Estado do Pará. O processo de extração do óleo de dendê apresenta de modo geral rendimento de 10% em relação a toda biomassa vegetal gerada desde o cultivo até o processamento dos frutos. O cacho vazio de dendê consiste em cerca de 60% de resíduo sólido processado. Deste modo, a agroindústria de dendê necessita de alternativas para o aproveitamento desses resíduos/subprodutos, de forma a obter produtos de valor agregado. O pré-tratamento biológico mediante cultivo de macrofungos por fermentação em estado sólido de biomassas lignocelulósicas tem potencial para gerar bioprodutos como cogumelos comestíveis, insumos para nutrição animal, açúcares fermentescíveis, bioativos microbianos e enzimas degradadoras de parede celular vegetal, que têm apelo biotecnológico para diferentes setores industriais. Diante disso, este trabalho teve como objetivo determinar o perfil enzimático de 9 espécies de macrobasidiomicetos e um ascomiceto (FCC94) cultivados por fermentação em estado sólido (FES) em cacho vazio de dendê triturado. Os fungos pertencem à coleção "Microrganismos e Microalgas Aplicados à Agroenergia e Biorrefinarias" – CMMAABio. Os extratos enzimáticos foram obtidos nos tempos de 6, 13 e 21 dias de fermentação e foram analisados em relação ao teor de proteínas solúveis totais, proteases e peroxidases totais. O ascomiceto FCC94 foi o que apresentou maior atividade de protease (3.000 UI mL^{-1}) e esteve entre os fungos com as maiores atividades de peroxidases totais (FPB109, FPB125 e FCC94), valores próximos de 20 UI g^{-1}. De modo geral, os fungos avaliados apresentaram melhores resultados quanto às atividades das enzimas da classe peroxidases, mostrando grande potencial para aplicação biotecnológica em processos de pré-tratamento da biomassa vegetal, facilitando a obtenção de açúcares fermentescíveis após a desconstrução da lignina, fator limitante de bioprocessos de hidrólise enzimática, por exemplo. Já as proteases possuem grande aplicação nas indústrias alimentícias, em processos de clareamento na fabricação de detergentes e outros processos industriais.

Auxílio Financeiro: Finep (01.13.00315.00), Capes, Embrapa.

Palavras-chave: biorrefinaria. biomassa vegetal. agroindústria. palma de óleo (dendê). basidiomicetos. pré-tratamento biológico.

[1] Graduanda em Farmácia, Universidade de Brasília, dulce.santos@colaborador.embrapa.br.
[2] Biólogo, mestre em Plantas Medicinais, Aromáticas e Condimentares, doutorando em Biotecnologia Vegetal, Universidade Federal de Lavras (Ufla)/ Capes-Embrapa, elias.silva@colaborador.embrapa.br.
[3] Bióloga, mestre em Microbiologia Aplicada, analista da Embrapa Agroenergia, thais.demarchi@.embrapa.br.
[4] Engenheira química, mestre em Engenharia Química, analista da Embrapa Agroenergia, thalyta.pacheco@embrapa.br.
[5] Engenheiro-agrônomo, doutor em Fitopatologia, pesquisador da Embrapa Agroenergia, manoel.souza@embrapa.br.
[6] Farmacêutica, doutora em Saúde Pública, pesquisadora da Embrapa Agroenergia, simone.mendonca@embrapa.br.
[7] Biólogo, doutor em Ciências Biológicas (Biologia Molecular), pesquisador da Embrapa Agroenergia, felix.siqueira@embrapa.br.

Expressão funcional de uma nova xilose isomerase em *Saccharomyces cerevisiae*

Gabriel de Souza Colombo[1], Ísis Viana Mendes[2], Betulia de Morais Souto[3], Nádia Parachin[4], João Ricardo Almeida[5], Betania Ferraz Quirino[6]

Resumo

Biocombustíveis representam uma alternativa vantajosa para o uso de combustíveis de origem fóssil. Atualmente, a busca por energias renováveis e a sua disponibilização e aplicação viáveis tornaram-se metas a serem alcançadas para o desenvolvimento sustentável. Nesse contexto, o bioetanol de segunda geração mostra-se uma excelente alternativa para a demanda global de biocombustível, devido ao aproveitamento de biomassa vegetal, mais precisamente a lignocelulose. Constituindo o material lignocelulósico, a hemicelulose representa uma fração considerável, composta de açúcares hexoses e pentoses, como a glicose e xilose, respectivamente. Tal fração não é aproveitada adequadamente devido à incapacidade da levedura *Saccharomyces cerevisiae* em metabolizar pentoses como a xilose. A *S. cerevisiae* é bastante utilizada nas biorrefinarias para a produção de bioetanol, devido a propriedades intrínsecas desejáveis, como a alta tolerância a meios ácidos, que evita a proliferação de contaminantes, assim como o bom rendimento e tolerância de etanol. Portanto, modificações metabólicas por engenharia genética é uma boa saída para a criação de leveduras capazes de metabolizar a xilose presente na fração hemicelulósica e, consequentemente, possibilitar um maior aproveitamento da biomassa vegetal para a produção de bioetanol. *S. cerevisiae* pode ser modificada metabolicamente para esse fim por meio da expressão de uma enzima chamada xilose isomerase, que realiza a isomerização da xilose em xilulose, o qual é posteriormente fosfatado, pela enzima xiluloquinase, para xilulose-5-fosfato, um intermediário da via das pentoses. No presente trabalho, um gene codificador para xilose isomerase, denominado *XyBet*, isolado a partir de uma biblioteca metagenômica de rúmen de cabras brasileiras, foi funcionalmente expresso em *S. cerevisiae*, numa cepa oriunda de um trabalho de mestrado realizado na Embrapa Agroenergia. A cepa transformada com o *XyBet* foi nomeada LXB. Foram montadas curvas de crescimento comparativa para avaliar o crescimento da LXB em meio com xilose como única fonte de carbono, o qual foi confirmado tanto em condições normais de aerobiose quanto em condições microaeróbicas. O consumo de xilose e a produção de metabólitos de interesse foi quantificado por meio de HPLC. A nova cepa poderá, futuramente, contribuir para a produção de bioetanol na indústria energética brasileira.

Auxílio Financeiro: Embrapa, CNPq, FAP-DF, Capes.

Palavras-chave: xilose. xilose isomerase. levedura. *Saccharomyces cerevisiae*.

[1] Graduando em Ciências Biológicas, Universidade Católica de Brasília (UCB), estagiário da Embrapa Agroenergia, gabriel.colombo@colaborador.embrapa.br.
[2] Bióloga, mestranda em Ciências Biológicas, Universidade de Brasília (UnB), bolsista da Embrapa Agroenergia, isis.mendes@colaborador.embrapa.br.
[3] Bióloga, mestre em Ciências Biológicas, analista da Embrapa Agroenergia, betulia.souto@embrapa.br.
[4] Bióloga, doutora em Engenharia Metabólica, professora da Universidade de Brasília (UnB), nadiasp@unb.br.
[5] Biólogo, doutor em Microbiologia Aplicada, pesquisador da Embrapa Agroenergia, joao.almeida@embrapa.br.
[6] Bióloga, doutora em Biologia Celular e Molecular, pesquisadora da Embrapa Agroenergia, betania.quirino@embrapa.br.

Enzimas lignolíticas de macrobasidiomicetos cultivados em torta semente de algodão combinados com casca de coco verde

Romário Oliveira Paiva[1], Hetiene Pereira Marques[2], Elias Alves da Silva[3], Manoel Texeira de Souza Junior[4], Simone Mendonça[5], Félix Gonçalves de Siqueira[6]

Resumo

Alguns macrobasidiomicetos/macrofungos são capazes de degradar substâncias tóxicas presentes em insumos para nutrição animal, tais como tortas de sementes de pinhão-manso, algodão, mamona, entre outras. Além da biodetoxificação, há outras vantagens no tratamento biológico de biomassas vegetais com macrofungos, tais como: aumento da digestibilidade/deslignificação e enriquecimento com bioativos e enzimas secretadas. Deste modo, este estudo teve como objetivo avaliar a capacidade de crescimento de macrofungos e produção de ligninases (lacases e peroxidases totais) quando cultivados em substratos à base de casca de coco verde (CCV) combinado com torta de caroço de algodão (TCA), enriquecidos com grãos triturados de milho, trigo e amaranto (integral). Um total de 7 formulações de substratos foram elaborados para o cultivo de 8 macrofungos (fermentação em estado sólido - FES) por 28 dias. Os macrofungos utilizados no estudo foram *Panus lecomtei* CC040, *Pleutorus pulmonarius* EF88, *Pleutorus ostreatus* CC389, *Fistulina hepatica* CC102, *Picnoporus sanguineus* FPB134, *Fomes* sp. FPB028, *Schizophyllum commune* FPB109 e *Oudmansiella canarii* CC037 pertencentes à coleção "Microrganismos e Microalgas Aplicados à Agroenergia e Biorrefinarias" – CMMAABio. Os macrofungos com melhor crescimento na maioria dos substrados testados foram CC389, FPB109 e CC037. O CC389 colonizou totalmente todos os substratos (7/7) aos 28 dias, sendo que, em seis dos substratos, levou apenas 23 dias para colonizá-los completamente. O FPB109 apresentou crescimento micelial significativo, colonizando todos os substratos, levando em média 24 dias de crescimento total para 4/7 substratos. Os macrofungos CC389, EF88 e FPB109 apresentaram os melhores resultados para atividade de lacase quando cultivados no substrato contendo a mistura de CCV (25%) + TCA (25%) + semente de milho triturado (50%). Os valores de lacases obtidos desses cultivos variaram entre 600 $U.g^{-1}$ e 1.200 $U.g^{-1}$. O CC389 também apresentou os melhores resultados para peroxidases totais em 5/7 dos substratos avaliados, chegando a atingir 350 $U.g^{-1}$ no substrato com CCV (25%) + TCA (25%) + semente de milho triturado (25%) + semente de amaranto integral (25%). Assim, pode-se inferir que algumas espécies de macro-basidiomicetos podem ser usadas para a produção de enzimas lignolíticas apresentando diferença de eficiência em diferentes tipos de combinações de substratos vegetais. Além disso, abre-se a perspectiva para o uso de biomassas vegetais previamente enriquecidas com micélio vegetativo, enzimas e bioativos dos macrofungos, como insumos para nutrição animal, pela prévia desconstrução parcial das fibras. Novos estudos serão realizados visando avaliar a detoxificação e alteração da composição bromatológica dos tratamentos mais promissores.

Auxílio Financeiro: CNPq (404786/2013-8), Capes, Embrapa, Finep.

Palavras-chave: macrofungos. enzimas descontrutoras de parede celular vegetal. biotecnologia.

[1] Graduando em Farmácia, Universidade de Brasília, romario.paiva@colaborador.embrapa.br.
[2] Bióloga, doutoranda em Biotecnologia Vegetal, Universidade Federal de Lavras, hetiene.marques@colaborador.embrapa.br.
[3] Biólogo, doutorando em Biotecnologia Vegetal, Universidade Federal de Lavras, elias.silva@colaborador.embrapa.br.
[4] Engenheiro-agrônomo, doutor em Fitopatologia, Embrapa Agroenergia, manoel.souza@embrapa.br.
[5] Fármacia, doutor em Ciência da Saúde, Embrapa Agroenergia, simone.mendonca@embrapa.br.
[6] Biólogo, doutor em Biologia Molecular/Enzimologia, pesquisador da Embrapa Agroenergia, felix.siqueira@embrapa.br.

QUÍMICA DE RENOVÁVEIS E MATERIAIS

Avaliação da influência dos extrativos na qualidade das nanofibras obtidas de engaço de dendê

Beatriz Leite[1], Mariana Resende Alvim[2], Felipe Brandão de Paiva Carvalho[3], Larissa Andreani[4], Leonardo Fonseca Valadares[5], Manoel Teixeira Souza Júnior[6]

Resumo

O processo de remoção dos extrativos dos cachos vazios de dendê (*Elaeis guineensis*) por solventes é lento e de difícil escalonamento, além de representar um custo adicional no contexto industrial. O objetivo deste trabalho foi verificar se a manutenção dos extrativos representa um entrave na produção de nanoestruturas a partir dos cachos, com o intuito de verificar a viabilidade do escalonamento no âmbito da Embrapa Agroenergia. Os engaços de dendê, fornecidos pela indústria DenPasa, foram secos, moídos e separados em duas frações. Uma delas foi submetida a processo de retirada de extrativos em Extrator Acelerado por Solvente com mistura $1{:}2_{(v:v)}$ de etanol e éter de petróleo. As biomassas com e sem extrativos foram submetidas a processo de purificação de celulose através de quatro extrações sucessivas com clorito de sódio e ácido acético a 87 °C, com duração total de 4 horas. Decorrido o tempo, os materiais foram filtrados em filtros de polipropileno e lavados com água fervente. As fibras filtradas foram acrescidas a solução de hidróxido de potássio e deixadas sob agitação durante 12 horas à temperatura ambiente. Na sequência, o material foi filtrado e lavado até que o pH da água de lavagem atingisse a neutralidade. As polpas foram caracterizadas quanto a seu conteúdo de celulose, hemicelulose e lignina, seguindo metodologia estabelecida pelo National Renewable Energy Laboratory (NREL). O processo realizado com o material sem extrativos apresentou conteúdo de celulose, hemicelulose e lignina de 71,9%, 7,47% e 2,26% respectivamente, enquanto o processo com extrativos resultou em 65,7%, 2,42% e 7,20% (determinações sem replicata). Ambas as amostras foram submetidas a reações de hidrólise enzimática para a obtenção de nanofibras, utilizando complexo celulolítico, em meio tamponado com citrato de sódio/ácido cítrico, durante 72 h a 50 °C. As nanofibras obtidas após a hidrólise enzimática foram analisadas quanto ao tamanho e espessura das fibras por microscopia eletrônica de varredura por emissão de campo (FEG-SEM) com detector de elétrons transmitidos. Apesar da discrepância em relação à composição lignocelulósica das biomassas com e sem extrativos, a análise microscópica não mostrou diferença morfológica entre as nanofibras obtidas. Em ambos os casos, a microscopia confirma a obtenção de nanofibras com espessuras da ordem de 30 nm. Também em ambos os casos pode ser observada a ocorrência de aglomerados parcialmente hidrolisados. A não remoção dos extrativos, portanto, não representa um problema à obtenção de nanofibras de celulose, embora rendimento e outras propriedades ainda devam ser analisadas.

Auxílio Financeiro: Finep (01.13.00315.00), Embrapa (SEG: 02.15.00.007.00.00).

Palavras-chave: nanofibras de celulose. engaço vazios de dendê. hidrólise enzimática. microcopia eletrônica. remoção de extrativos. escalonamento.

[1] Graduanda em Engenharia de Bioprocessos, Universidade Federal de São João del-Rei, beatriz_leite1@hotmail.com.
[2] Graduanda em Engenharia de Bioprocessos, Universidade Federal de São João del-Rei, mari.alvim@hotmail.com.
[3] Engenheiro bioquímico, mestre em Tecnologia Química e Biológica, analista da Embrapa Agroenergia, felipe.carvalho@embrapa.br.
[4] Química, doutora em Físico-Química, analista da Embrapa Agroenergia, larissa.andreani@embrapa.br.
[5] Químico, doutor em Físico-Química, pesquisador da Embrapa Agroenergia, leonardo.valadares@embrapa.br.
[6] Engenheiro-agrônomo, doutor em Fitopatologia, pesquisador da Embrapa Agroenergia, manoel.souza@embrapa.br.

Nanocompósitos de PLA e celulose: avaliação das propriedades mecânicas

Beatriz Leite[1], Mariana Resende Alvim[2], Larissa Andreani[3], Felipe Brandão de Paiva Carvalho[4], Leonardo Fonseca Valadares[5], Manoel Teixeira Souza Júnior[6]

Resumo

Existe um grande interesse no desenvolvimento de materiais biocompatíveis e biodegradáveis que apresentem características comparáveis aos materiais sintéticos convencionais. O poli(ácido lático) (PLA) é um poliéster biodegradável sintetizado a partir do ácido lático, que possui origem natural e tem sido utilizado amplamente em diversos segmentos industriais. Já as nanofibras de celulose são apontadas como um promissor material de reforço para matrizes poliméricas como o amido, a borracha natural e o poliuretano. Dentre as principais vantagens de utilização das nanofibras de celulose estão a sua biodegradabilidade e a sua abundância. Com o objetivo de preparar um material de origem 100% natural e com características adequadas para a impressão 3D, este trabalho verificou o efeito da adição de nanofibras de celulose em matrizes de PLA por ensaio de tração e avaliou a morfologia do nanocompósito formado por microscopia eletrônica de varredura por emissão de campo (FEG-SEM). Filamentos de PLA utilizados para impressão 3D foram solubilizados em clorofórmio. Posteriormente, nanofibras de celulose provenientes de cachos vazios de dendê (*Elaeis guineensis*) foram adicionadas à dispersão nas concentrações de 0,5, 1,0 e 1,5%$_{(m/m)}$ com o auxílio de um homogeneizador ultraturrax. As misturas resultantes foram depositadas em placas de Petri e secas a temperatura ambiente. A partir do filme formado, corpos de prova (100 mm x 12 mm) foram confeccionados e submetidos a ensaio de tração na máquina universal de ensaios utilizando-se célula de carga de 500 kgf. Os ensaios de tração indicaram que a adição de nanofibras de celulose à matriz de PLA reduziu a tensão máxima suportada pelo material, enquanto a deformação e o módulo de elasticidade permaneceram estatisticamente similares. Entre os nanocompósitos avaliados, a formulação preparada com 1,5% de nanofibras apresentou valores de tensão máxima de 14,49 MPa, valor próximo ao encontrado no PLA puro: 15,92 MPa. Observou-se por microscopia eletrônica que não ocorreu adesão entre as nanofibras e a matriz de PLA, presumivelmente devido à característica polar das nanofibras de celulose, em contraste com a matriz hidrofóbica de PLA. A adesão na interface é desejada, pois permite a transferência de esforços mecânicos entre a matriz polimérica e a carga de reforço, o que resulta em materiais com propriedades mecânicas diferenciadas. Alternativas como a adição de agentes compatibilizantes ou a modificação química da superfície das nanofibras devem ser estudadas visando à melhoria da adesão interfacial entre a celulose e matriz polimérica.

Auxílio Financeiro: Finep (01.13.00315.00), Embrapa (SEG: 02.15.00.007.00.00).

Palavras-chave: materiais biodegradáveis. nanofibras de celulose. poli(ácido lático). ensaio de tração. microscopia eletrônica.

[1] Graduanda em Engenharia de Bioprocessos, Universidade Federal de São João del-Rei, beatriz_leite1@hotmail.com.
[2] Graduanda em Engenharia de Bioprocessos, Universidade Federal de São João del-Rei, mari.alvim@hotmail.com.
[3] Química, doutora em Físico-Química, analista da Embrapa Agroenergia, larissa.andreani@embrapa.br.
[4] Engenheiro bioquímico, mestre em Tecnologia Química e Biológica, analista da Embrapa Agroenergia, felipe.carvalho@embrapa.br.
[5] Químico, doutor em Físico-Química, pesquisador da Embrapa Agroenergia, leonardo.valadares@embrapa.br.
[6] Engenheiro-agrônomo, doutor em Fitopatologia, pesquisador da Embrapa Agroenergia, manoel.souza@embrapa.br.

Mapeamento de potenciais parceiros por análise patentária: o caso da Embrapa Agroenergia

Melissa Braga[1], Priscila Mendes Ferreira[2],Gabriel Galvão Gomes[3]

Resumo

Agregar valor aos produtos e processos é um dos grandes desafios do setor produtivo. Por isso, há uma busca constante pela diferenciação, seja por meio da aquisição de novas tecnologias, seja pelo desenvolvimento *in-house* delas. Grande parte da informação tecnológica referente a processos inovadores está contida em documentos de patentes, visto que eles concentram grande parcela do conhecimento tecnológico do mundo. Essas informações tecnológicas, estruturadas em bases de dados gratuitas e de livre acesso, podem ser usadas em estudos quali e quantitativos, com objetivo estratégico para empresas que buscam oportunidades de parceiras. Nesse sentido, este estudo apresenta resultados de um levantamento de patentes com prioridade brasileira, depositadas entre 2012 e 2017, cujos conteúdos estão associados aos eixos temáticos da Embrapa Agroenergia, a saber: Biomassa (para fins industriais), Biotecnologia industrial, Química de renováveis e Biomateriais. Para tanto, empregou-se a base internacional *Derwent Innovations Index*, que permitiu selecionar: i) documentos depositados no Brasil (BR*); ii) o período de interesse; e iii) áreas do conhecimento, identificadas pelas Classificações Internacional de Patentes (CIP), associadas aos eixos temáticos de interesse. Os resultados mostram que, em termos de Biomassas (7.467 documentos), nota-se a concentração de pedidos voltados para o desenvolvimento de maquinários (CIP: A01D), com destaque à atuação de empresas como Semeato e Agco. As universidades brasileiras predominam em pedidos associados à Biotecnologia (7.668 documentos), principalmente no preparo de composições farmacêuticas ou cosméticas (CIP: A61K). Nesses registros, destaca-se a atuação da USP e Unicamp. Os desenvolvimentos locais em Biomateriais (10.217 documentos) estão claramente associados às composições de materiais de construção como cimento, concreto e cerâmica (CIP: C04B). A USP e UFRGS destacam-se nesse segmento. Ainda nessa área, observa-se que as tecnologias internacionais estão voltadas para polímeros (CIP: C08L). A área Química de renováveis (38.587 documentos), por sua vez, é bastante ampla e diversificada, com interface com diversas outras áreas do conhecimento, e, analogamente à área de Biotecnologia, concentra esforços no patenteamento de composições ou formulações para uso farmacêutico ou cosmético (CIP: A61K), com predomínio de depositantes internacionais, como Dow e BASF. Embora as pesquisas desenvolvidas na Embrapa Agroenergia tenham interface com todas as áreas do conhecimento apresentadas acima, nota-se que a pesquisa desenvolvida em território brasileiro está predominantemente voltada para necessidades básicas, enquanto que tecnologias de ponta também desenvolvidas nesta Unidade, associadas à nanotecnologia e engenharia genética de organismos vivos, por exemplo, concentram-se em universidades brasileiras ou empresas internacionais cujos pedidos entraram em fase nacional.

Auxílio Financeiro: Embrapa.

Palavras-chave: patentometria. agroenergia. eixos temáticos. parceiros.

[1] Química, doutoranda em Química, analista da Embrapa Agroenergia, melissa.braga@embrapa.br.
[2] Bióloga, mestranda em Biologia, Universidade de Brasília, priscila.ferreira@colaborador.embrapa.br.
[3] Graduando em Engenharia de Produção, Centro Universitário Estácio, gabrielgalvao3g@gmail.com.

Desenvolvimento de protótipo miniatura de rastreador solar: uso de sensores, chip Arduino e impressão 3D

Wellington Rangel dos Santos[1], Paloma Reis Lucas[2], Leonardo Fonseca Valadares[3]

Resumo

Sistemas para rastreamento da posição solar são úteis em equipamentos que convertem a luz do sol em formas de energia útil para a humanidade. Equipamentos como concentradores solares, reatores de microalgas e células fotovoltaicas podem ter suas eficiências aumentadas caso sejam direcionados corretamente. Concentradores solares, por exemplo, podem ser utilizados como fonte de calor para reatores, fornecendo energia para o pré-tratamento de biomassa, reações químicas, sem fazer uso de eletricidade ou combustíveis, minimizando custos e impactos ambientais. O objetivo deste trabalho é desenvolver e construir protótipo miniatura de rastreador solar automático. A confecção do protótipo foi realizada usando quatro sensores de luz (LDR), dois motores de passo e chip Arduino. A arquitetura de sustentação, do sensor e do suporte das peças do projeto foi confeccionada pela impressora 3D. Adicionalmente, para viabilizar o funcionamento de maneira autônoma, foi desenvolvido um *software* para a movimentação (um motor move o sistema nas coordenadas de zênite e o outro em azimute) a partir dos valores obtidos dos sensores LDR. Todo o sistema é reposicionado automaticamente à medida que houver uma alteração da posição relativa do sol. Para exemplificar a aplicação desse rastreador, um concentrador solar de 0,0057 m^2 foi acoplado ao sistema e um sensor de temperatura com massa de 0,21 g foi colocado no foco. A cada trinta segundos, a temperatura foi medida. Os resultados mostraram que, de 12h15min a 12h30min, foram registrados valores de temperatura superiores a 100 °C, que é o limite máximo do detector. Com base nos resultados obtidos, conclui-se que o protótipo é capaz de rastrear a luz solar de forma satisfatória. Esta é uma colaboração para o projeto "Aplicação de concentrador solar para secagem de biomassa" (TOA 1628/2017 – Processo 04193.001631/2017), que tem apoio financeiro da Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal (FAP-DF).

Auxílio Financeiro: FAP-DF (04193.001631/2017).

Palavras-chave: rastreador solar. concentrador solar. aumento de eficiência. automação e controle. impressão 3D.

[1] Cientista da Computação, especialista em Gestão de Projetos, analista da Embrapa Agroenergia, wellington.santos@embrapa.br.
[2] Analista de Sistemas, especialista em Gestão de Tecnologia da Informação, analista da Embrapa Agroenergia, paloma.lucas@embrapa.br.
[3] Químico, doutor em Química, pesquisador da Embrapa Agroenergia, leonardo.valadares@embrapa.br.

Desenvolvimento de método por UHPLC-MS/MS para determinação de polióis provenientes da bioconversão de glicerina

Flávia Soares Vieira[1], Diana Rêgo Amazonas[2], José Antônio de Aquino Ribeiro[3], Mônica Caramez Triches Damaso[4], Clenilson Martins Rodrigues[5], Patrícia Verardi Abdelnur[6]

Resumo

O biodiesel representa uma importante forma de progresso tecnológico. Entretanto, sua produção tem gerado excedentes de glicerina, trazendo novos desafios sobre como reutilizar esse coproduto. A bioconversão microbiana representa uma alternativa para converter essa fonte de carbono em compostos químicos de maior valor econômico. Para avaliar o desempenho dos microrganismos utilizados no processo, necessita-se de métodos analíticos sensíveis e seletivos para quantificar os compostos químicos produzidos, mesmo em baixas concentrações. O objetivo deste trabalho foi desenvolver um método baseado em cromatografia líquida de ultra-alta eficiência acoplada à espectrometria de massas (UHPLC-MS) para detectar e quantificar isômeros espaciais de polióis que contenham: 4 carbonos (eritritol e treitol), 5 carbonos (arabitol, ribitol, xilitol), 6 carbonos (dulcitol, iditol, manitol, sorbitol) e 7 carbonos (volemitol), passíveis de serem produzidos a partir da bioconversão de glicerina. As análises foram realizadas em um sistema UHPLC-MS com fonte de ionização por electrospray (ESI) e analisador de massas do tipo triplo quadrupolo. Parâmetros instrumentais do espectrômetro de massas (voltagem do capilar e energia do cone) foram otimizados utilizando a técnica *Direct Infusion Mass Spectrometry (DIMS)*. Utilizou-se a espectrometria de massas tandem (MS/MS) para obtenção dos perfis de fragmentação e seleção das energias de colisão e razão *m/z.* Para separação cromatográfica dos polióis foi utilizada a coluna BEH Amida (2,1 x 150 mm, 1,7 µm) e a fase móvel A) H_2O com 0,1% de ácido fórmico e B) Acetonitrila com 0,1% de ácido fórmico, à vazão de 0,3 mL/min. O método desenvolvido empregou ionização ESI(+)-MS e monitoramento de reação múltipla (MRM – *Multiple Reaction Monitoring*), que fornece maior sensibilidade e seletividade para a detecção. Foram configurados dois canais MRM para monitorar cada analito, não sendo notada perda de sensibilidade. O canal que forneceu o íon fragmento mais intenso foi utilizado para quantificação e o segundo canal, menos intenso, para confirmação da presença do analito. Padrões de fragmentação semelhantes foram obtidos para os isômeros, correspondendo às reações de desidratação, comuns para esse tipo de composto. A identificação dessa classe é um desafio, pois, além de serem isômeros, possuem padrões de fragmentação semelhantes. A etapa de separação cromatográfica é crucial e permite diferenciar os isômeros durante a análise. Aliando à capacidade de separação com as vantagens de detecção, o método UHPLC-MS/MS estabelecido pode monitorar, com alta sensibilidade, 10 polióis em 20 minutos, sendo uma opção mais adequada para a etapa de prospecção de linhagens capazes de produzir polióis, mesmo em baixas concentrações.

Auxílio Financeiro: Capes e CNPq.

Palavras-chave: UHPLC-MS/MS. polióis. glicerina.

[1] Farmacêutica, mestre em Química, Universidade Federal de Goiás, sv.flavia@gmail.com.
[2] Bióloga, doutora em Toxinologia, diana.amazonas@gmail.com.
[3] Farmacêutico, mestre em Ciências Farmacêuticas, analista da Embrapa Agroenergia, jose.ribeiro@embrapa.br.
[4] Engenheira química, doutora em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, pesquisadora da Embrapa Agroenergia, monica.damaso@embrapa.br.
[5] Químico, doutor em Química, pesquisador da Embrapa Agroenergia, clenilson.rodrigues@embrapa.br.
[6] Química, doutora em Química Orgânica, pesquisadora da Embrapa Agroenergia, patricia.abdelnur@embrapa.br.

Síntese de precursores do bioquerosene a partir de óleo fúsel da indústria alcooleira

Jonathan Baumi[1], Caroline Milane Bertosse[2], Itânia Pinheiro Soares[3], Carmen Luisa Barbosa Guedes[4]

Resumo

O óleo fúsel é a fração menos volátil do processo de destilação do álcool combustível e é o único resíduo da indústria sucroalcooleira que não pode ser utilizado na agricultura. A proporção média de óleo fúsel é estimada em 2,5 litros cada 1.000 litros de álcool produzido, o qual ainda pode ser chamado de resíduo, pois não é devidamente aproveitado sob o ponto de vista quantitativo ou qualitativo na indústria ou no comércio. A produção de álcool em uma usina de porte médio pode alcançar até 1,5 milhões de litros por dia. A indústria alcooleira no Brasil produziu 27,8 bilhões de litros de etanol em 2017, gerando aproximadamente 71 mil m^3 de óleo fúsel. É de grande importância investir na destinação desse resíduo, agregando valor à cogeração do óleo fúsel, cuja composição com altos teores de álcool isoamílico e isobutílico, baixo preço comercial e elevado volume na geração por safra de cana-de-açúcar são fatores que estimulam propostas de desenvolvimento de tecnologia para sua exploração, por exemplo, o mercado dos biocombustíveis. A aviação civil consome mundialmente cerca de 177 bilhões de litros de combustíveis fósseis. A *European Aviation Commission* determinou em 2009 que as emissões deveriam ser reduzidas em 20% até o ano de 2020, sendo as fontes renováveis uma alternativa altamente promissora para que a meta seja atingida. O objetivo deste trabalho é sintetizar compostos a partir do óleo fúsel, visando à produção de aditivos ou substitutos parciais para os combustíveis fósseis da aviação, como o querosene e a gasolina. A síntese de álcoois precursores do bioquerosene foi realizada em três etapas e a de éter em apenas uma etapa. O produto de partida foi o álcool isoamílico, destilado a partir do óleo fúsel, frente à oxidação utilizando o *TCCA* (ácido tricloroisocianúrico) e *TEMPO* (N-oxil-2,2,6,6-tetrametilpiperidina). O meio reacional foi mantido a 20 °C durante 15 minutos. Na segunda etapa, utilizou-se solução de NaOH (hidróxido de sódio) com Isovaleraldeído (3-Metilbutanal) em 4 horas de reação, obtendo-se o 2-isopropil-5-metil-2-hexenal com rendimento de 75%. Na terceira etapa, foi utilizado $NaBH_4$ (Boroidreto de sódio) em água/etanol para redução do aldeído e obtenção do álcool de interesse, 2-isopropil-5-metil-2-hexenol. Na síntese para obtenção do éter isoamílico, foi utilizado o álcool isoamilico, obtido a partir do óleo fúsel, frente à reação com ácido sulfúrico durante 2 horas e rendimento de 80%. Através de procedimentos simples utilizando reagentes de baixo custo, foi possível sintetizar o 5-metil-2-isopropil-2-hexenol e o éter isoamílico a partir da fração mais abundante do óleo fúsel, compostos ditos precursores do bioquerosene. Estão sendo realizados ensaios físico-químicos e outros com até 10% dos compostos sintetizados em mistura no querosene e gasolina de aviação a fim de avaliar a qualidade dos mesmos de acordo com as normas nacionais e internacionais para uso dos combustíveis de aviação.

Auxílio Financeiro: Capes, CNPq e Fundação Araucária.

Palavras-chave: aviação. querosene. biocombustível. gasolina. resíduo.

[1] Químico, mestre em Bioenergia, doutorando em Química, Universidade Estadual de Londrina, jonathanbaumi@hotmail.com.
[2] Química, mestranda em Bioenergia, Universidade Estadual de Londrina, caroline.bertosse@uel.br.
[3] Química, doutora em Química, pesquisadora da Embrapa Agroenergia, itania.soares@embrapa.br.
[4] Química, doutora em Química Orgânica, docente da Universidade Estadual de Londrina, coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Bioenergia, carmen@uel.br.

Desenvolvimento de protocolo de aplicação de matriz em folha de dendê para imagem química por MALDI-MS

Jorge Candido Rodrigues Neto[1],Tallyta Santos Teixeira[2], Patrícia Pinto Kalil Gomes Costa[3], Patrícia Verardi Abdelnur[4]

Resumo

Diversos compostos de importância biológica, como metabólitos, lipídeos e proteínas, se distribuem de forma heterogênea na superfície de um tecido vivo, de forma a otimizar suas funções. A técnica de imagem química por espectrometria de massas (*Imaging Mass Spectrometry – IMS*) tem a capacidade de detectar e identificar compostos sem o prévio tratamento do extrato biológico, de forma a analisar o tecido e facilitar o estudo da localização espacial de compostos de interesse, além de correlacioná-los com organelas ou estruturas biológicas. O MALDI-IMS (do inglês, *Matrix-assisted Laser Desorption/Ionization – Imaging Mass Spectrometry*) é uma das técnicas mais utilizadas para experimentos de imagem química, no entanto, ainda existem alguns desafios a serem superados, principalmente em amostras vegetais. O maior desafio no desenvolvimento de protocolos de imagem química por MALDI-MS é a aplicação da matriz, que deve ser realizada de forma a obter uma superfície o mais uniforme possível. Dessa forma, esse trabalho teve como objetivo avaliar três diferentes métodos de aplicação da matriz 9-aminoacridina (9-AA) para MALDI-IMS: manual (micropipeta), *spray* e sublimação. Os métodos foram avaliados em seções transversais de folha de dendezeiro (*Elaeis guineensis*) obtidas por corte manual e previamente tratadas com etanol para remoção da camada cerosa superficial. Na aplicação de 9-AA em solução de metanol com uso de micropipeta, observou-se uma dificuldade na cristalização e deposição heterogênea da matriz aplicada. Isso porque são aplicadas gotas sobre o material vegetal que, a nível microscópico, representam um grande volume de solvente, o que gera um acúmulo desordenado de matriz na borda das gotas aplicadas. Na aplicação de matriz com uso de *spray*, uma solução 9-AA/metanol é nebulizada para que a matriz seja aplicada com uma menor quantidade de solvente, facilitando a secagem, porém também apresentou características de acúmulo de matriz em pequenas gotas. Devido ao solvente presente em ambas as técnicas supracitadas, as aplicações de matrizes mostraram-se pouco reprodutíveis, demandando um melhor estudo acerca de suas implicações, tais como o deslocamento de compostos. Como alternativa às técnicas (manual e *spray*), é apresentada a aplicação de matriz por sublimação, que se baseia na transição sólido-gás da matriz que, com auxílio de aquecimento e baixa pressão, é direcionada para a deposição na amostra. Essa técnica apresentou uma homogeneidade superior observada por uma fina camada de matriz na superfície da folha. Outra vantagem foi o fato de a sublimação ser livre de solvente, o que aumenta a precisão da aplicação de matriz e sua reprodutibilidade. Assim, a aplicação por sublimação mostra-se promissora para MALDI-IMS de metabólitos presentes em folha de dendê.

Auxílio Financeiro: Finep, Capes.

Palavras-chave: MALDI *imaging*. sublimação. *Elaeis guineensis*.

[1] Químico, doutorando em Química, Universidade Federal de Goiás, jorge.rodrigues@colaborador.embrapa.br.
[2] Engenheira de bioprocessos e biotecnologia, doutoranda em Química, Universidade Federal de Goiás, tallyta.santos@colaborador.embrapa.br.
[3] Química, mestre em Química Orgânica, analista da Embrapa Agroenergia, patricia.costa@embrapa.br.
[4] Química, doutora em Química Orgânica, pesquisadora da Embrapa Agroenergia, patricia.abdelnur@embrapa.br.

Direcionamento tecnológico de pesquisas associadas à lignina segundo análise bibliométrica

Priscila Mendes Ferreira[1], Melissa Braga[2]

Resumo

A lignina é considerada a segunda fonte mais abundante de matéria-prima natural e a maior fonte de polímeros aromáticos de natureza fenólica com propriedades adesivas, capaz de se tornar fonte de insumos para a indústria química. Por essa razão, a pesquisa acerca desse tema vem crescendo ao longo dos anos, em busca de produtos químicos capazes de substituir moléculas oriundas de fontes não renováveis. Publicações científicas concentram os resultados de pesquisas desenvolvidas sobre o tema, e a análise desses documentos permite identificar tendências associadas às tecnologias emergentes. Nesse sentido, este estudo apresenta um estudo bibliométrico, em que se fez uso de dados e informações estruturados na base *Web of Science*, no período de 2007 a 2017, empregando a palavra "lignin" no campo de busca, para identificar o direcionamento da pesquisa científica associada à transformação de lignina em produtos de maior valor agregado. Para tanto, as palavras contidas nos resumos foram analisadas no software Vantage Point® (Search Technology) e classificadas em termos de matérias-primas, processos e produtos. Dentre os 13.175 resumos analisados, constatou-se que as matérias-primas que predominam nas pesquisas de conversão de ligninas residuais são kraft, licor negro e alcalina. Os processos predominantes são pirólise, hidrodesoxigenação, redução com peróxido de hidrogênio, além da utilização de fungos de podridão-branca para a conversão da lignina. Constatou-se também que os processos físico-químicos são mais estudados do que dos processos biológicos para o mesmo fim. Quanto aos produtos, dividem-se em três classes: i) energia e combustíveis (bio-óleo, carvão vegetal, biocombustíveis, hidrogênio); ii) macromoléculas (compósitos, fibras, resinas, fibra de carbono, nanocompósitos); e iii) intermediários da indústria química (ligonossulfonatos, fenóis, carvão ativado, vanilina, antioxidantes, guaiacol, hidrogênio, BTX e derivados, e dispersantes). Não há uma medida precisa para se inferir o grau de maturidade dessas tecnologias, mas, com base na leitura de parte desses documentos, identifica-se que o processo de combustão para obter eletricidade já é empregado, enquanto os demais processos para obtenção de combustíveis e produtos químicos ainda têm um caminho a ser percorrido até serem adotados comercialmente. As instituições mais atuantes são, em quase sua totalidade, Universidades, exceto pela participação da Embrapa na listagem das 10 principais instituições. Dentre os temas mais recorrentes nessas pesquisas estão projetos que visam à obtenção de fenóis, oriundos de processos de desconstrução da lignina. Nesse sentido, destaca-se a atuação de grupos da Universidade Estadual de Maringá (UEM), Universidade Federal de Lavras (Ufla) e Universidade Federal de Viçosa (UFV).

Auxílio Financeiro: Lignoreov (Rhodia).

Palavras-chave: bibliometria. prospecção tecnológica. lignina.

[1] Bióloga, mestranda em Biologia, Universidade de Brasília, priscila.ferreira@colaborador.embrapa.br.
[2] Química, doutoranda em Química, analista da Embrapa Agroenergia, melissa.braga@embrapa.br.

Uso de catalisadores multifuncionais à base de Níquel na produção de *green diesel*

Gustavo Alves da Costa[1], Vânnia Cristina dos Santos-Durndell[2], Vanessa Alves Alvim[3], Diogo Keiji Nakai[4], Leonardo Fonseca Valadares[5], Itânia Pinheiro Soares[6]

Resumo

Nos últimos anos, muitos esforços vêm sendo feitos na tentativa de encontrar substitutos renováveis para o diesel de petróleo. Atualmente, duas alternativas se destacam: o biodiesel e o *green diesel* ou diesel verde. O biodiesel pode ser produzido pelo processo de transesterificação de óleos vegetais ou gorduras animais com metanol para levar à formação de ésteres metílicos de ácidos graxos. Apesar do grande avanço na tecnologia para a produção do biodiesel, o setor ainda tem alguns desafios a vencer, como a destinação adequada dos resíduos do processo de produção. Uma alternativa viável para a solução desse problema seria sua utilização como matéria-prima para a produção do *green diesel* por meio do processo de hidrodesoxigenação (HDO). A partir de oleaginosas ou gorduras animais e hidrogênio, são produzidos hidrocarbonetos idênticos ao diesel de petróleo. Além disso, podem ser produzidos adaptando-se os processos e infraestrutura existentes nas refinarias de petróleo. Para que o processo seja sustentável, faz-se necessária a utilização de catalisadores heterogêneos multifuncionais. Estes são considerados os mais adequados, pois podem ser moldados de acordo com o processo de interesse para promover uma maior eficiência e seletividade, e também podem ser recuperados e reutilizados. Os catalisadores à base de níquel têm sido amplamente usados, pois possuem baixo custo em comparação aos metais mais nobres. Neste trabalho foi avaliado o desempenho de catalisadores à base de nanopartículas de níquel suportadas em sólidos mesoporosos de sílica do tipo MCM-41, aluminosilicatos do tipo Al-MCM-41 e Al_2O_3 no processo HDO em condições brandas, com o objetivo de se correlacionar as propriedades ácidas dos suportes com a atividade catalítica. Os resultados de DRX em concordância com os de MET e MEV, evidenciaram que a adição do etilenoglicol na impregnação das espécies de Ni sobre a superfície dos suportes promoveu a formação de partículas em escala nanométrica com cerca de 7 nm. Os catalisadores foram investigados na reação de desoxigenação do oleato de metila e de um material residual do processo de produção do biodiesel. Os resultados utilizando o oleato de metila como substrato evidenciaram o potencial para a hidrogenação das duplas ligações para a formação do éster saturado. Os resultados utilizando o material residual como substrato indicaram que as espécies de níquel dispersas nos suportes MCM-41 e Al-MCM-41 promoveram cerca de 80% da conversão do substrato em hidrocarbonetos (nC17), indicando sua atividade catalítica nas etapas de descarbonilação e/ou descarboxilação.

Auxílio Financeiro: Finep, Capes e CNPq.

Palavras-chave: catalisadores multifuncionais. níquel. hidrodexogenação. *green diesel*.

[1] Engenheiro de Energia, Universidade de Brasília, gustavo-alves15@hotmail.com.
[2] Química, doutoura em Química, vanniasantos@yahoo.com.br.
[3] Graduanda em Engenharia de Energia, Universidade de Brasília, vanessa.alves@colaborador.embrapa.br.
[4] Engenheiro de Bioprocessos e Biotecnologia, mestre em Ciências Mecânicas, Analista da Embrapa Agroenergia, diogo.nakai@embrapa.br.
[5] Químico, doutor em Química, pesquisador da Embrapa Agroenergia, leonardo.valadares@embrapa.br.
[6] Química, doutora em Química Analítica, pesquisadora da Embrapa Agroenergia, itania.soares@embrapa.br.

Estudo bibliométrico como apoio à tomada de decisão: o caso dos álcoois de cadeia curta

Mariana Andrade Furtado[1], Priscila Mendes Ferreira[2], Melissa Braga[3]

Resumo

O sucesso de um projeto de biorrefinaria depende da consolidação de um portfólio de produtos compreendendo tanto os de baixo nível tecnológico, de fácil fabricação e altos volumes (biocombustíveis, por exemplo), como os de alta carga tecnológica, de maior complexidade de fabricação, com caráter diferenciado ou disruptivo, os quais possibilitarão desde o aumento da margem de lucro e até a viabilidade do projeto como um todo. Para o alcance dessa meta, a estratégia deve ser traçada partindo da identificação dos produtos-alvos com essas últimas características. Há, entretanto, uma infinidade de produtos passíveis de produção a partir da transformação da biomassa, o que torna o direcionamento de esforços em pesquisa um dilema para os gestores. Além disso, são poucas as informações de mercado confiáveis, disponíveis e gratuitas para subsidiar essa análise. Nesse sentido, a literatura (científica e patentária) é uma fonte vasta e estruturada de informações e pode auxiliar a tomada de decisão, superados os desafios de análise e compilação do alto volume de dados nela contido. Este trabalho apresenta o resultado da priorização por meio de estudo bibliométrico, empregando como estudo de caso álcoois de cadeia curta (<C6) passíveis de serem obtidos a partir de biomassa, especificamente monossacarídeos. O número de publicações associadas ao produto foi usado como indicativo de interesse, e as áreas tecnológicas a que esses documentos estão associados, como um indicativo dos mercados-alvos. Para tanto, avaliou-se a evolução de publicações nas bases de artigos e patentes *The Lens*, *Web of Science* e *Derwent Innovation Index*, entre os anos de 2008 e 2017, empregando na busca os nomes comuns dos álcoois. Os resultados mostram que os álcoois de até 4 carbonos, como metanol e etanol, são os de maior número de ocorrências e taxa de crescimento nos registros; o oposto é observado em se tratando de álcoois maiores, como o hexanol e pentanol. Dentre as substâncias em posição intermediária em termos de número de ocorrências, porém com crescimento significativo, estão os polióis, destacadamente os álcoois de açúcares, como o xilitol, sorbitol e manitol, estando eles também alocados em segmentos com maior valor unitário, tais como o farmacêutico, de cuidados pessoais e alimentício. Essas informações, obtidas a partir da análise quantitativa, estão alinhadas com as informações apresentadas por especialistas na literatura científica recente, mostrando que o método aqui proposto pode auxiliar na tomada de decisão diante de várias opções em termos de produtos oriundos de rotas renováveis.

Auxílio Financeiro: Embrapa.

Palavras-chave: priorização. álcoois. bibliometria.

[1] Graduanda em Biologia, Centro Universitário de Brasília, mariana.furtado@colaborador.embrapa.br.
[2] Bióloga, mestranda em Biologia, Universidade de Brasília, priscila.ferreira@colaborador.embrapa.br.
[3] Química, doutoranda em Química, analista da Embrapa Agroenergia, melissa.braga@embrapa.br.

Avaliação de toxicidade em *Artemia salina* de extratos de biomassas e resíduos agrícolas

Henrique de Oliveira Amaral[1], Olga Alves Costa Souza[2], Bruno Leite Sampaio[3], Raquel Bombarda Campanha[4], Simone Mendonça[5], Patrícia Abrão de Oliveira Molinari[6]

Resumo

A toxicologia envolve o estudo do efeito de substâncias em organismos vivos a fim de avaliar seu potencial risco à saúde. Dessa forma, ensaios toxicológicos visam apontar concentração e/ou tempo em que um determinado composto apresente potencial prejuízo à saúde e, assim, prever seus efeitos tóxicos em sistemas biológicos. A *Artemia salina* é uma alternativa interessante de organismo-teste para avaliação toxicológica, por se tratar de um método de fácil manuseio e cultivo, além de ser rápido e apresentar baixo custo, permitindo ser usado como bioindicador para avaliação toxicológica de triagem. Neste sentido, o seguinte trabalho teve como objetivo avaliar o potencial risco toxicológico de seis extratos vegetais obtidos a partir de biomassas e resíduos agrícolas (casca de algodão, casca de semente de algodão, casca de soja, *Arundo donax*, *Setaria viridis*e, casca de coco) para avaliar a viabilidade destes em indústria de cosméticos e alimentícios. O ensaio de toxicidade frente à *Artemia salina* seguiu a avaliação de três concentrações diferentes de cada extrato, sendo elas de: 1.500 µg/mL, 10 µg/mL e 2 µg/mL. As amostras de *Arundo donax*, *Setaria viridis,* casca de coco e casca de algodão foram solubilizadas em solução de água marinha com Tween 80% a 10%, enquanto os extratos de casca de semente de algodão e casca de soja, que apresentam maior lipofilicidade, foram solubilizados em uma solução de água marinha com Tween 80% a 20%. O experimento foi realizado em duplicata com seis tubos de ensaio sendo usados para cada amostra. Dois controles foram selecionados para o experimento, ambos em duplicata e realizados com o solvente usado. Dentre os extratos usados neste bioensaio, somente o de *Arundo donax* apresentou maior toxicidade, possivelmente por ser uma planta medicinal e apresentar alcaloides em sua composição, causando a morte de aproximadamente 50% do total de náupilos de Artêmia testados. Enquanto os outros extratos não apresentaram toxicidade significante, visto que a casca de coco apresentou porcentagem de 30% de animais mortos, seguida da casca de soja com 25,40%, casca de algodão com 22% e *Setaria viridis* com 20%. A casca de semente de algodão foi o único extrato que não apresentou mortes de náupilos em nenhuma das concentrações testadas. As baixas toxicidades desses extratos são provavelmente em razão de eles serem culturas alimentícias e consideradas seguras para alimentação.

Auxílio Financeiro: Embrapa (SEG 02.16.05.019.00).

Palavras-chave: avaliação toxicológica. *Artemia salina*. extratos de biomassas e extrato de resíduos agrícolas.

[1] Graduado em Farmácia, Universidade de Brasília, henrique.amaral@colaborador.embrapa.br.
[2] Graduanda em Farmácia, Universidade de Brasília, olga.souza@colaborador.embrapa.br.
[3] Farmacêutico, doutor em Ciências, bruno.leite@embrapa.br.
[4] Química, mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos, analista da Embrapa Agroenergia, raquel.campanha@embrapa.br.
[5] Farmacêutica, doutora em Saúde Pública, pesquisadora da Embrapa Agroenergia, simone.mendonca@embrapa.br.
[6] Farmacêutica, doutora em Ciências, pesquisadora da Embrapa Agroenergia, patricia.oliveira@embrapa.br.

Rendimento de nanofibras de celulose de cachos vazios de dendê em reação de hidrólise ácida

Tayane da Silva Eloi[1], Larissa Andreani[2], Felipe Brandão de Paiva Carvalho[3], Leonardo Fonseca Valadares[4]

Resumo

O dendê (*Elaeis guineenses*) é uma cultura de extrema relevância para a agroindústria mundial. No entanto, a cada tonelada de óleo produzido, 1,1 tonelada de cachos vazios de dendê é gerada, resultando em um grande volume de resíduo. Visando encontrar uma destinação para essa biomassa, este trabalho propõe a produção de nanofibras a partir da hidrólise ácida de cachos vazios de dendê, seguida de cisalhamento. Cachos vazios da cultivar 2301, Tenera, foram limpos, secos e moídos. Em seguida, passaram por processo de extração e purificação da celulose (não apresentado neste trabalho). A celulose purificada foi liofilizada e submetida às seguintes condições de hidrólise ácida: concentração de ácido sulfúrico de 62% $_{(m/m)}$, mantida sob agitação por 70 minutos a 45 °C. Em seguida, a reação foi interrompida com água gelada e a dispersão resultante foi lavada com água destilada seguida de centrifugação até pH neutro. Posteriormente, a suspensão aquosa foi cisalhada a 16.000 rpm por 5 minutos em dispersor IKA T25 Ultra-turrax. Observou-se que, mesmo após 48 horas de decantação, não houve separação de fases, ou seja, as nanofibras geradas por esse método permaneceram em suspensão. O rendimento de produção das nanofibras foi calculado por gravimetria após secagem das amostras por 24 horas em estufa a 50 °C. O procedimento citado acima foi realizado em triplicata. Além da determinação do rendimento, as amostras foram caracterizadas por microscopia eletrônica de varredura por emissão de campo (FEG-SEM) com detector de elétrons transmitidos. Obteve-se nanofibras com 42,83% de rendimento e desvio-padrão de 4,16%, com base na massa inicial de celulose purificada. A microscopia eletrônica confirma a obtenção de nanofibras pelo método proposto. Foram observadas nanofibras isoladas com faixa de comprimento entre 355 nm a 761 nm e com espessura média de 33 nm. A microscopia eletrônica da amostra formada após a secagem das nanofibras em estufa indicou a formação de um material de superfície lisa ligeiramente rugosa, porém homogênea, e com seção transversal indicando a existência de camadas compactas. Os resultados deste trabalho indicam que a utilização do método combinado pela hidrólise ácida com o cisalhamento produz nanofibras isoladas pelo rompimento dos aglomerados celulose, no formato de agulhas resultando rendimento próximo de 43%.

Auxílio Financeiro: Embrapa (SEG 01.14.03.001.01.00).

Palavras-chave: cachos vazios de dendê. nanofibras de celulose. hidrólise ácida. microscopia eletrônica de varredura.

[1] Graduanda em Farmácia, Universidade de Brasília, tayane.eloi@colaborador.embrapa.br.
[2] Química, doutora em Físico-Química, analista da Embrapa Agroenergia, larissa.andreani@embrapa.br.
[3] Engenheiro bioquímico, mestre em Tecnologias Química e Biológica, analista da Embrapa Agroenergia, felipe.carvalho@embrapa.br.
[4] Químico, doutor em Físico-Química, pesquisador da Embrapa Agroenergia, leonardo.valadares@embrapa.br.

Embrapa
Agroenergia

Apoio

CNA Brasil

Ubrabio
União Brasileira do Biodiesel e Bioquerosene

Seres

Surcns

Patrocínio

ABDI
Agência Brasileira de Desenvolvimento Industrial

SINPAF
EMBRAPA SEDE

GOL

FS Bioenergia

MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO

CGPE 14740