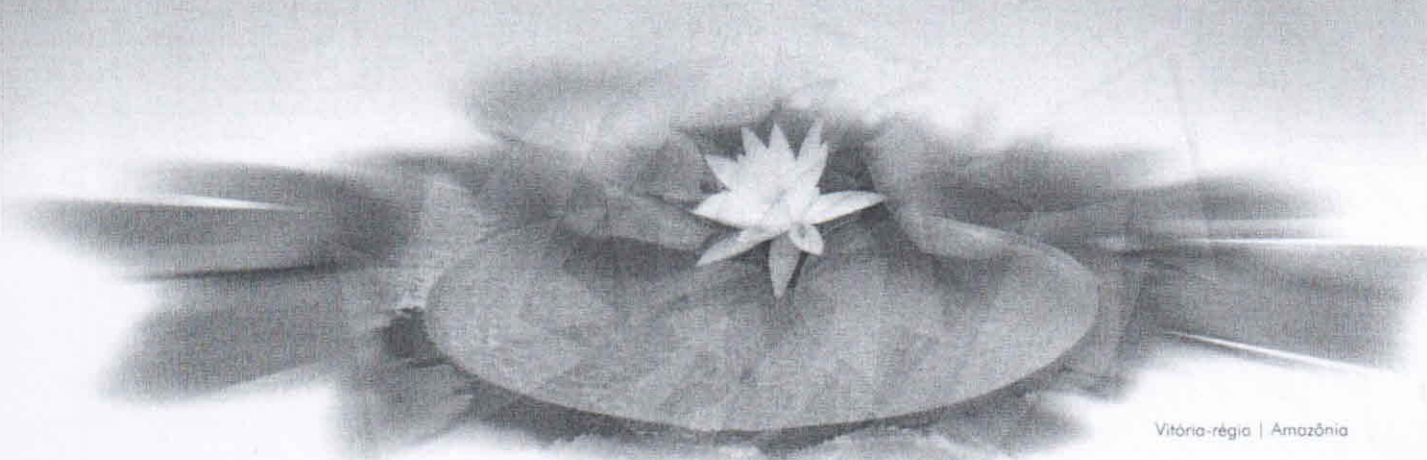




ENZITEC 2010

IX SEMINÁRIO BRASILEIRO DE TECNOLOGIA ENZIMÁTICA



Vitória-régia | Amazônia

VERSATILIDADE E EFICIÊNCIA NA INOVAÇÃO SUSTENTÁVEL

10 a 12 de novembro de 2010
Hotel Sheraton Barra
Rio de Janeiro-RJ

www.enzitec2010.com.br

organização

Ministério da
Ciência e Tecnologia



INSTITUTO
NACIONAL DE
TECNOLOGIA

Far manguinhos

FIOCRUZ

Embrapa
Agropecuária de Alimentos

SBBiotec

patrocínio

Braskem

natura
bem estar bem

INFORS MT



SOTELAB

TECNAL 3D

BIOMM
TECHNOLOGY

apoio

FAPERJ

CNPq

FINEP

PETROBRAS
Prêmio PETROBRAS
de Tecnologia

CAPEB

cgee

rpm and with a levan production of 70.54 g L⁻¹. The highest levan production was 113.31 g L⁻¹, with activity of 5.52 AU. Statistical analysis showed that the concentration of sucrose had a negative effect, inhibiting the enzyme activity, since the pH and agitation had a positive effect. There wasn't found significant interaction between variables. The levan production in experimental conditions showed a direct relationship to enzyme activity.

Palavras-chaves: *Bacillus subtilis* Natto, enzyme production, factorial design, levan, levansucrase

PRODUÇÃO DE LIPASES POR *Penicillium brevicompactum* E FERMENTAÇÃO EM ESTADO SÓLIDO UTILIZANDO FARELO DE ARROZ COMO SUBSTRATO

Sheila Predabon¹, Marcell Fernandes Silva¹, Débora Oliveira¹, Helen Treichel¹, Marco Di Luccio¹, Denise Maria Guimarães Freire², Aline Machado Castro³

URI - URI-Campus de Erechim (Av. 7 de setembro, 1621, Centro, Erechim, RS, 99700-000),² UFRJ - Universidade Federal do Rio de Janeiro (Instituto de Química, Departamento de Bioquímica),³ PETROBRAS - CENPES - PETROBRAS - CENPES (Centro de Pesquisas e Desenvolvimento Leopoldo Américo Miguez de Melo)

Lipases são biocatalisadores de importância em diferentes áreas, podendo catalisar reações tanto em meio aquoso como em meio orgânico. Essa propriedade proporciona às lipases a possibilidade de utilização em uma ampla gama de substratos, possuindo estabilidade frente à temperatura, pH e diferentes solventes orgânicos. A utilização de subprodutos agroindustriais como substrato, além de agregar valor a materiais de baixo custo, pode vir a reduzir o preço final da enzima. O objetivo deste trabalho foi investigar a produção de lipase por *Penicillium brevicompactum* por fermentação em estado sólido utilizando farelo de arroz como substrato. Os efeitos das variáveis de processo para maximização da produção das enzimas foram investigados utilizando a técnica de planejamento experimental. Atividades de esterificação de 167 e 106 U/g foram obtidas em meio suplementado (3% m/m) de óleo de soja e sem suplementação, respectivamente, em 72 horas de fermentação e 80% de umidade. A redução da atividade de esterificação em meio sem suplementação ocorreu provavelmente devido ao aumento da relação C/N do meio. Observou-se durante os experimentos que a utilização de resíduos agroindustriais pode ser uma alternativa viável para a produção de lipases através de fontes microbianas. A especificidade do extrato enzimático bruto em diferentes substratos foi avaliada, utilizando ácido láurico, ácido butírico e ácido oléico, e metanol, etanol, propanol e butanol. Atividades de esterificação de 94,03 e 87,98 U/g foram obtidas quando ácido láurico e butanol e ácido oléico e propanol foram utilizados como substratos, respectivamente, indicando preferência da enzima por ácidos graxos e alcoóis de cadeia média e longa.

Palavras-chaves: Lipases, fermentação em estado sólido, resíduos agroindustriais, suplementação, especificidade

PRODUÇÃO DE FENOL-OXIDASES POR *Pleurotus sajor-caju* PS 2001 EM BAGAÇOS DE FRUTAS E SERRAGEM DE *Pinus sp*

Denise Maria Finimundi¹, Leticia Osório da Rosa¹, Emanuele Barbieri¹, Aldo José Pinheiro Dillon¹

UCS - Universidade de Caxias do Sul (Rua Francisco Getulio Vargas, s/nº, Caxias do Sul, RS.)

Neste trabalho, está sendo focado o aproveitamento de serragens e resíduos de frutas gerados por agroindústrias como substrato para cultivo do fungo *Pleurotus sajor-caju* PS 2001 e obtenção de enzimas fenol-oxidases. Foram utilizados bagaços de *Vitis labrusca*, *Malus domestica* e *Citrus sinensis* combinados com serragens de *Pinus sp*, obtendo-se as seguintes formulações: S1: bagaço; S2: bagaço + serragem (3:1); S3: bagaço + serragem (1:1); S4: bagaço + serragem (1:3) e S5: serragem. Os cultivos, realizados durante um período de 30 dias, foram suplementados com farelo de trigo (5%) e CaCO₃ (1%), com adição de água destilada até obtenção de ±66% de umidade. As maiores atividades de lacases foram obtidas em S1 e S2 empregando bagaços de *M. domestica*, sendo 81.995 e 78.069 U.g⁻¹, no 30º e 14º dias de cultivo, respectivamente. A utilização de bagaços de *C. sinensis* apresentou maior atividade de lacases em S2, 52.052 U.g⁻¹, no 16º dia de cultivo, já com bagaço de *V. labrusca*, S4 propiciou a maior atividade de lacases por *P. sajor-caju*, 36.918 U.g⁻¹, no 18º dia de cultivo. A maior quantidade de proteínas foi obtida no cultivo em S2 de *C. sinensis*, com 4.813 U.g⁻¹. Para manganês peroxidase, o melhor resultado obtido, 636,4 U.g⁻¹, foi em S3, com *M. domestica*. As demais fenol-oxidases foram detectadas em quantidades não significativas. Os cultivos realizados com bagaços e serragens nas proporções descritas permitem concluir que os meios empregando bagaços de *M. domestica* são os mais adequados para a atividade enzimática de fenol-oxidases pelo fungo *P. sajor-caju*.

Palavras-chaves: Cultivo sólido, fenol-oxidases, lacases, resíduos agroindustriais, *Pleurotus sajor-caju*

PRODUÇÃO DE ENZIMAS PROTEOLÍTICAS POR FERMENTAÇÃO SEMI-SÓLIDA EM CONDIÇÕES ESTÁTICAS E DINÂMICAS

Adriana Crispim de Freitas^{1,4}, Rafael Frederico Fonseca^{2,3}, Victor Bertucci Neto³, Cristiane Sanchez Farinas³, Gustavo Adolfo Saavedra Pinto⁴

¹ UFC - Universidade Federal do Ceará (Av. da Universidade, 2853 - Benfica - Fortaleza - CE), ² USP - Universidade de São Paulo (Av. Trabalhador São-carlense, 400, Arnold Schimidt), ³ Cnpdia - Embrapa Instrumentação Agropecuária (Rua XV de

Novembro, 1452), ⁴ Cnpq - Embrapa Agroindústria Tropical (Rua Dra Sara Mesquita, 2270 - Planalto do Pici)

Proteases representam importante classe de enzimas que respondem por aproximadamente 60% do mercado mundial de enzimas. Sendo assim, os rendimentos do total de vendas representado pelas proteases de origem microbiana. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a produção de proteases por fermentação semi-sólida de torta de canola em condições estáticas e dinâmicas. Os parâmetros avaliados em condições estáticas foram: seleção de linhagens, adição de diferentes volumes de água ao substrato, temperatura de incubação, variação da concentração de inoculo, adição de fontes suplementares de fósforo, nitrogênio e carbono. Em condições dinâmicas utilizando biorreator em colunas instrumentado os parâmetros avaliados foram: vazão do ar, umidade do ar e umidade do substrato. Os meios foram inoculados com suspensão de esporos e incubados durante 96h. A linhagem com maior capacidade de síntese de protease foi *Aspergillus oryzae*. As condições ótimas de produção foram: temperatura de incubação de 20°C, adição de 40mL por 100g de torta e inóculo na concentração de 1×10^7 esporos.g⁻¹ de meio resultando em uma produção de 540,0U.g⁻¹ em 96h. A suplementação do meio fermentativo com fonte de fósforo não influenciou positivamente, no entanto a adição de extrato de levedura na concentração de 1% (p/p) e de glicose na concentração de 7,5% (p/p) elevaram a produção em 10,94 e 22,56%, respectivamente. Os melhores resultados obtidos em reator de colunas foi de 315U.g⁻¹. Entretanto, o estudo da influência das variáveis de processo ao longo da fermentação influenciou em um aumento de 900% na produção de proteases.

Palavras-chaves: Proteases, fermentação semi-sólida, *Aspergillus*, biorreator de colunas, torta de canola

CULTIVO SUBMERSO PARA PRODUÇÃO CONCOMITANTE DE PROTEASES E BIOSURFACTANTES POR *Bacillus licheniformis*

Daniela Silva Gomes ¹, Marcelo de Andrade Silva ¹, Roziana Cunha Cavalcanti Jordão ^{1,2}, Alexandra Amorim Salgueiro ¹

¹ UNICAP - Universidades Católica de Pernambuco (Rua Príncipe, 526, Boa Vista, Recife, PE, CEP 50050 900), ² UPE - Universidade de Pernambuco (Av. Agamenon Magalhães, s/n, Sto. Amaro, Recife, PE)

Os processos biotecnológicos na indústria têm destaque no desenvolvimento da economia mundial. O interesse econômico por metabólitos de origem microbiana tem aumentado devido ao elevado potencial nas aplicações industriais. O objetivo deste trabalho foi investigar a produção concomitante de proteases e de biosurfactantes por *Bacillus licheniformis*. Na presença de nitrato de sódio 1%, foram investigadas em triplicata, cinco condições de fontes de carbono (%): soro de leite 10 e glicerina residual 10; soro de leite 10 e melão 10; soro de leite 10 e óleo diesel 10; soro de leite 20; glicerina residual 20. O pH foi ajustado inicialmente para pH 10. Os cultivos foram realizados na presença de inoculo 10% (v/v), apresentando 107 UFC/mL; frascos de Erlenmeyer contendo 50 mL de meio foram mantidos a 150 rpm durante 24h a 37°C. Os líquidos metabólicos obtidos com 8 e 24 h de cultivo foram centrifugados a 5000 rpm e utilizados para determinar tensão superficial e proteases (substrato azocaseína). O pH variou dependendo das condições utilizadas, atingindo o valor mínimo de pH 5,5 e o máximo de pH 9,0. Na presença de soro de leite e glicerina residual foram determinadas atividades proteolíticas máximas de 1,77 e 1,962 U/mL com 8 e 24 h de cultivo submerso, respectivamente. Nessa condição, foi determinada a menor tensão superficial, 26,70±0,1 mN/m. Análises estatísticas da produção concomitante de proteases e de biosurfactantes por *Bacillus licheniformis* na presença de soro de leite e glicerina residual de biodiesel devem ser realizadas, visando otimização dos resultados.

Palavras-chaves: *Bacillus licheniformis*, biosurfactantes, glicerina residual, proteases, soro de leite

AVALIAÇÃO DA ADIÇÃO DE XILANASE, LACASE E CELULASE NA DIGESTIBILIDADE IN VITRO DO BAGAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR

Ruan Fonseca Segura Gabriel ¹, André Teixeira Lellis ^{2,1}, Aline Zorzeto Lopes Gonçalves ³, Erika Barbosa Neves Graminha Roberto Joanne Yoshihiro Fujieda ³, Marco Antonio Alvares Balsalobre ³, Roberto da Silva ¹, Eleni Gomes ¹

¹ Unesp - IBILCE - Universidade Estadual Julio de Mesquita Filho (Rua Cristóvão Colombo, 2265 Jardim Nazareth CEP 15054-000 São José do Rio Preto), ² Unesp - FCAV - Universidade Estadual Julio de Mesquita Filho - Jaboticabal (Via Acesso Prof. Paulo Donato Castellane s/n 14884-900 Jaboticabal-SP), ³ Bellman - Bellman - Bellman Nutrição Animal Ltda (Rod. Washington Luiz, Km 453 CEP 15130-000 Mirassol-SP Cx. Postal 301)

O bagaço de cana-de-açúcar (BIN) tem sido usado como volumoso na dieta de ruminantes, porém as ligações entre os polissacarídeos estruturais faz dele um subproduto de baixa digestibilidade, sendo necessário o desenvolvimento de métodos que promovam o rompimento da estrutura de sua fração fibrosa, tornando-o mais digestível. O objetivo foi avaliar a digestibilidade in vitro do BIN para ruminantes com a adição de extratos enzimáticos produzidos pelos fungos mesofílicos *Corioliopsis byrsina* (fonte de lacase) e *Thichoderma reesei* (fonte de celulase e xilanase) por fermentação em estado sólido (FES). A FES foi realizada utilizando como substrato resíduo de cerveja (cevada) para o fungo *C. byrsina* e BIN (50%) e farelo de trigo (50%) para o fungo *T. arantiacus*, em escala laboratorial. Os tratamentos avaliados foram: C, controle (sem adição de extrato enzimático); T1 (adição de 600 U/mL de lacase) e T2 (adição de 300 U/mL de lacase + 12 U/mL de celulase + 39 U/mL de xilanase). O estudo da digestibilidade in vitro por produção de gases foi feito segundo metodologia de Theodorou. Os resultados obtidos foram avaliados por análise de variância (ANOVA), usando o programa SAS. Houve aumento de digestibilidade da matéria seca do BIN, para as enzimas adicionadas (F=13,39; p<0,001): C (35,88%), T1 (36,34%) e T2 (38,02%). Quando adicionada apenas lacase (T1) não foi encontrada diferença, porém quando misturada a celulase e xilanase (T2), houve aumento