

**ÁREA DE PESQUISA: Engenharia Bioquímica**

**DOCENTE ORIENTADOR: Adilson José da Silva**

**TÍTULO: Otimização da produção de ácido 3-hidroxi propiônico por processo biotecnológico**

**RESUMO**

O ácido 3-hidroxi propiônico (3-HP) representa um bloco construtor promissor no contexto das biorrefinarias, podendo ser utilizado como precursor de uma variedade de produtos como, por exemplo, bioplásticos, entre outros. Entretanto, sua produção por rota química apresenta vários problemas tecnológicos e ambientais e, por isso, busca-se uma alternativa biotecnológica. Em nosso grupo de pesquisa, foi desenvolvida uma linhagem geneticamente modificada da bactéria *Escherichia coli* capaz de produzir o 3-HP. Alguns passos foram dados no sentido de otimizar a produção desse composto, e este projeto visa dar continuidade a esse trabalho. Para isso, estão previstas algumas modificações genéticas adicionais no sistema, de forma a eliminar a necessidade de utilização de indutor (IPTG) e antibióticos na produção do 3-HP, tornando o processo mais barato e factível para aplicação em escala industrial. Além disso, o projeto prevê também o aprimoramento do metabolismo do glicerol pela linhagem produtora de forma que as células sejam capazes de utilizar o glicerol derivado da produção de biodiesel como fonte de carbono para conversão em 3-HP. Na sequência do trabalho, serão realizados cultivos da linhagem produtora em biorreatores de bancada para otimizar os parâmetros de produção, buscando atingir metas de viabilidade técnica, econômica e ambiental. Assim, ao final, pretende-se chegar à construção de uma linhagem de *E. coli* cujas alterações metabólicas implementadas lhe transformem em uma fábrica celular para produção eficiente de 3-HP a partir de uma fonte barata e renovável, e em um processo viável para implementação industrial.

**Palavras-chaves:** 3-HP; Ácidos orgânicos; Biorrefinaria; Engenharia metabólica; Biologia Sintética.

**ÁREA DE PESQUISA: Engenharia Bioquímica**

**DOCENTE ORIENTADOR: Adilson José da Silva**

**TÍTULO: Construção de uma fábrica celular para produção biológica de melanina**

**RESUMO**

As melaninas constituem uma classe de biopolímeros aromáticos produzidos por diversos organismos. Devido a suas propriedades de absorção de raios UV, raios X e raios  $\gamma$ , há uma vasta gama de aplicações biotecnológicas para estas moléculas na indústria química, farmacêutica, de cosméticos, entre outras. Além disso, essas moléculas podem ser usadas como semicondutores, e possuem atividade antioxidante e antiviral, expandindo seu potencial de aplicações. Especificamente, em nosso grupo de pesquisa, a melanina produzida será avaliada para o desenvolvimento de baterias. Atualmente, a melanina é extraída, com baixo rendimento, a partir de plantas e animais, ou é produzida por síntese química, que é relativamente custosa. Nesse cenário, a produção biológica destas moléculas a partir de microrganismos representa uma alternativa sustentável aos processos atuais. Sua formação em sistemas biológicos ocorre a partir do aminoácido L-tirosina, pela ação de enzimas da classe das tirosinases. Tais enzimas já se mostraram funcionais em microrganismos como *Escherichia coli* e *Streptomyces kathirae*, podendo ser expressas de forma heteróloga para ação sobre a L-tirosina e outros substratos análogos. Neste projeto, propõe-se a produção de melanina por células geneticamente modificadas da bactéria *Corynebacterium glutamicum*. Este microrganismo é utilizado industrialmente para produção de aminoácidos, e ainda não há relatos na literatura de sua utilização para produção de melanina. Desse modo, o projeto prevê, inicialmente, a implementação de modificações genéticas nas células de *C. glutamicum* para produção e acúmulo do aminoácido L-tirosina e, em seguida, o estudo de tirosinases de diversas origens para conversão da L-tirosina em melanina. Estão previstos também estudos das condições de cultivo em biorreator da melhor linhagem produtora para o desenvolvimento e otimização do processo de produção. Assim, ao final do projeto, pretende-se obter uma fábrica celular eficiente para produção de melanina por via biológica, e a formação de um pesquisador qualificado para trabalhar em todas as etapas de desenvolvimento e produção de um bioproduto, desde a construção da linhagem produtora até a otimização e escalonamento do processo produtivo.

**Palavras-chaves:** Engenharia metabólica; *Corynebacterium glutamicum*; metabólitos secundários; Biologia molecular; bioprodutos.

**ÁREA DE PESQUISA: Engenharia Bioquímica**

**DOCENTE ORIENTADOR: Alberto Colli Badino Junior**

**TÍTULO: Avaliação das condições de cultivo e de operação em biorreatores na produção de esporos de actinomicetos para aplicação como bioinsumos agrícolas**

Bioinsumos ou insumos biológicos são produtos, processos ou tecnologias de origem biológica para uso sistemas agrícolas, pecuários, florestais e aquáticos.

Os bioinsumos agrícolas são bioprodutos oriundos de cultivos de microrganismos (bactérias ou fungos) aplicados como promotores de crescimento de plantas e no biocontrole de doenças ou pragas.

Grande parte dos produtos disponíveis comercialmente são baseados em esporos de microrganismos, majoritariamente esporos de fungos filamentosos. O desenvolvimento de produtos para controle biológico à base de actinomicetos (bactérias filamentosas) são raros. No entanto, tem-se o conhecimento que este gênero é capaz de produzir diversos metabólitos secundários com bioatividade como antibacterianos, antifúngicos, anti-helmínticos, antivirais, antitumorais, sendo responsável pela síntese da maioria dos antibióticos atualmente conhecidos.

Embora sejam microrganismos amplamente conhecidos, a definição de condições adequadas de cultivo e de operação para a produção de esporos de estreptomicetos em cultivos submersos é ainda um desafio em termos de engenharia de bioprocessos.

No presente tema de tese de doutorado serão avaliados os efeitos das condições de cultivo (batelada, batelada pulsada e batelada alimentada) e de operação (agitação e/ou aeração, transferência de oxigênio e cisalhamento) em biorreatores convencionais (tipo tanque agitado e aerado) e não convencionais pneumáticos (coluna de bolha e airlift) na produção de bioinsumos por estreptomicetos.

Pretende-se desenvolver protocolos de produção de bioinsumos à base de esporos de estreptomicetos empregando diferentes técnicas de Engenharia de Bioprocessos, de forma a se obter produtos com alta concentração celular e de esporos, eficiência de esporulação e resistência térmica para posterior aplicações em casa de vegetação e no campo.

**Palavras-chaves:** bioinsumos, biorreatores tipo tanque agitado, biorreatores pneumáticos, condições de cultivo e de operação de biorreatores.

**ÁREA DE PESQUISA: Engenharia Bioquímica**

**DOCENTE ORIENTADOR: Alberto Colli Badino Junior**

**TÍTULO: Produção de bioprodutos a partir de galacto-oligossacarídeos do melaço e da vinhaça de soja**

O Brasil é o segundo país na produção e processamento mundial de soja, sendo também o segundo maior exportador de grão bruto, óleo e farelo, principais produtos da soja. Dentre os diversos produtos à base de soja, o isolado proteico de soja (IPS) é um produto de destaque, por apresentar alto teor proteico. É produzido a partir da farinha desengordurada de soja, sendo esta fração separada dos demais componentes do grão por processos de precipitação, lavagem, neutralização e secagem. Na etapa de produção de IPS, o conteúdo de açúcar presente no farelo é extraído com solução hidroalcoólica e a proteína precipitada (65% de proteínas em base seca). Após a recuperação do etanol do sobrenadante, é obtido um melaço de soja com cerca de 50% de teor de umidade. Em base seca, o melaço de soja contém na sua composição 57,3% de carboidratos, principalmente sacarose (28,4%), estaquiase (18,6%) e rafinose (9,68%). Contém ainda quantidades significativas de proteínas (9,44%) e lipídios (21,2%). Conhecida sua composição, o melaço de soja tem sido empregado como matéria-prima para a produção de bioprodutos como etanol, goma xantana, poli-p-hidroxialcanoatos, biometano, entre outros.

Na produção de etanol a partir do melaço de soja, não há o consumo pela levedura *Saccharomyces cerevisiae*, microorganismo produtor, dos galacto-oligossacarídeos presentes, no caso, rafinose (um trissacarídeo composto por 1 molécula de glicose, 1 de frutose e 1 de galactose) e estaquiase (um tetrassacarídeo composto por 1 molécula de glicose, 1 de frutose e 2 de galactose). Portanto, após as etapas de fermentação e destilação do vinho fermentado, esses galacto-oligossacarídeos permanecem na vinhaça gerada.

Isto posto, o presente tema de doutorado visa avaliar a produção de produtos funcionais baseados nos galacto-oligossacarídeos da soja (rafinose e estaquiase), bem como avaliar bioprocessos que promovam a conversão desses açúcares em bioprodutos de maior valor agregado. Para tal propõe-se a avaliação de diferentes microrganismos ou de “whole-cells” (células em condições de não crescimento) em bioprocessos conduzidos em biorreatores pneumáticos (coluna de bolhas ou airlift).

**Palavras-chaves:** melaço de soja, vinhaça de soja, galacto-oligossacarídeos.

**ÁREA DE PESQUISA: Engenharia Bioquímica**

**DOCENTE ORIENTADOR(A): Profa. Dra. Fernanda Perpétua Casciotori**

**TÍTULO: Recuperação e estabilização de biomassa celular de fungo cultivado em estado sólido visando aplicação em controle biológico de pragas**

#### **RESUMO**

Compostos sintéticos ou químicos proporcionam controle de pragas alvos em curto prazo, porém apresentam alta ou média toxicidade aos mamíferos, além de ser comum que várias pragas adquiram resistência aos agentes sintéticos em função do tempo de uso, requerendo formulações cada vez mais concentradas e conseqüentemente mais tóxicas. A aceitabilidade e a utilização dos agentes biológicos crescem com o passar dos anos, mesmo com custos acima dos praticados para os agentes químicos, em decorrência de vantagens ao meio ambiente e à saúde. Os agentes biológicos proporcionam controle prolongado das pragas, baixa ou nenhuma toxicidade aos seres humanos, alta seletividade e eficiência na mortandade de pragas. No entanto, seu processo industrial ainda enfrenta desafios tecnológicos, tais como a necessidade de aumento da eficiência de recuperação do agente ativo e da estabilidade das formulações. Diante do exposto, este projeto tem como objetivo desenvolver soluções tecnológicas para recuperação e estabilização de conídios do fungo *Trichoderma asperellum* cultivado em arroz, tendo em vista a formulação de produtos para controle biológico de pragas agrícolas. Serão conduzidos testes em escala de frascos para avaliação do melhor fluido de recuperação da biomassa celular ativa a partir do material cultivado, considerando como variáveis respostas a eficiência de extração e a estabilidade da formulação. Uma vez definido o fluido apropriado, serão feitos testes de extração sólido-líquido por percolação do material alocado em uma coluna composta por módulos feitos em aço inox, visando atingir à concentração mínima desejada em relação ao agente biológico ativo. Serão variadas a proporção de líquido para sólido fermentado, a vazão de escoamento do fluido e o tempo de percolação. Por fim, o extrato será destinado a operações de concentração por evaporação a vácuo, precipitação fracionada, liofilização e spray drier. Espera-se, ao final do trabalho, ter desenvolvido um processo eficiente de recuperação da biomassa celular, estabilizada em formulação capaz de garantir manutenção da atividade biológica durante o armazenamento e a aplicação no campo.

**PALAVRAS-CHAVE:** downstream; controle biológico; bioprocessos; cultivo em estado sólido.

## ÁREA DE PESQUISA: Engenharia Bioquímica

PROFESSOR: Paulo Waldir Tardioli

### TÍTULO: Sistema multienzimático imobilizado para biotransformação de polímeros de glicose em ácido glucônico

**RESUMO:** Ácido glucônico é conhecido por suas propriedades quelantes, podendo formar gluconatos com diversos cátions, tais como sódio, potássio e cálcio. Esses sais são amplamente utilizados em vários segmentos industriais, com destaque para os setores de alimentos, bebidas e fármacos. O ácido glucônico possui um mercado global milionário de US\$ 50 milhões em 2017 e expectativa de US\$80 milhões em 2024, o que corresponde a um consumo de mais de 120 KTon de ácido glucônico no setor industrial. Embora o ácido glucônico seja principalmente produzido por rota fermentativa, vários estudos propõem a rota enzimática a fim de se reduzir custos, principalmente relacionado à etapa de purificação do produto desejado. Pesquisadores do DEQ/UFSCar (Alberto Colli Badino, Paulo W. Tardioli e Emanuela F. Q. Pucci) desenvolveram e patentearam recentemente um bioprocesso multienzimático para a conversão de amido em ácido glucônico usando células inteiras de *Aspergillus niger* (WC) em condições de não crescimento, combinadas com enzimas acessórias (alfa-amilase e amiloglicosidase - AMG) para hidrolisar amido à glicose. Neste processo, o amido é liquefeito e sacarificado pela ação das enzimas amilolíticas, produzindo glicose, que por sua vez é oxidada à ácido glucônico pela enzima glicose oxidase (GOD) presente na membrana celular do *A. niger*. Nesta reação é produzido peróxido de hidrogênio, que é degradado em água e oxigênio molecular pela ação da enzima catalase (CAT) também presente na membrana de *A. niger* (Figura 1). A primeira etapa do processo é realizada por enzimas livres, que ao final não são reaproveitadas, enquanto as WC podem ser recuperadas, lavadas e reutilizadas em uma nova batelada.

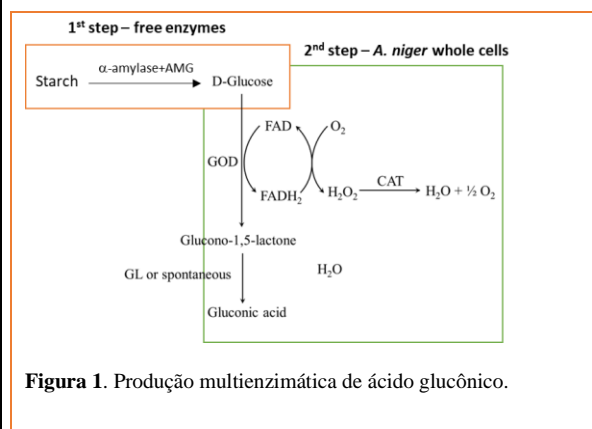


Figura 1. Produção multienzimática de ácido glucônico.

Assim, esse projeto tem por objetivo avaliar primeiramente o reciclo das WC e, essas mostrando-se estáveis, avaliar em uma segunda etapa a co-imobilização das enzimas amilolíticas com as WC, utilizando terra diatomácea como auxiliar de imobilização e tratamento com do biocatalisador multienzimático com polietilenoimina (PEI) e glutaraldeído. O bioprocesso patenteado apresentou um rendimento em ácido glucônico de ~ 98%,

com uma pureza >96%. Entretanto, a produtividade volumétrica (1,6 g/L/h, ~7 vezes menor que a teórica) é um parâmetro que requer otimização. Portanto, neste projeto será avaliada também a oxidação da glicose com as WC parcialmente rompidas por ação enzimática (usando lisozima) a fim de se melhorar a transferência de massa de substratos e produtos através da parede celular do fungo.

**Informações do docente:** ORCID (<https://orcid.org/0000-0002-5011-9881>); Lattes/CNPq (<http://lattes.cnpq.br/0808991927126468>). Contato: [pwtardioli@ufscar.br](mailto:pwtardioli@ufscar.br).

**Palavras-chaves:** *Aspergillus niger* Contatr, amido, ácido glucônico, biocatalisador multienzimático

**ÁREA DE PESQUISA: Engenharia Bioquímica**

**DOCENTE ORIENTADOR: Thais Suzane Milessi Esteves**

**TÍTULO: Bioprocessamento consolidado de co-produtos da indústria sucro-energética para a co-produção de etanol de segunda geração e coquetel enzimático.**

**RESUMO**

O desenvolvimento de biorrefinarias com processos integrados baseados na total utilização da biomassa vegetal é crucial na substituição da matriz energética por fontes renováveis, tornando necessária a valorização de subprodutos lignocelulósicos como a palha e o bagaço de cana-de-açúcar. Em contrapartida, os elevados custos associados aos coquetéis enzimáticos necessários na etapa de hidrólise destes materiais podem comprometer a viabilidade econômica do processo em escala industrial. Neste sentido, o Bioprocessamento Consolidado (BPC) é uma tecnologia emergente onde a produção de enzimas hidrolíticas, a hidrólise enzimática da biomassa e a fermentação dos açúcares liberados ocorrem em um mesmo reator, produzindo etanol 2G. Embora a construção de cepas recombinantes para BPC seja relatada na literatura, o desenvolvimento e a otimização da “Engenharia do Bioprocessamento Consolidado” são pouco explorados. Adicionalmente, as cepas disponíveis apresentam tempos de fermentação elevados, resultando em baixas produtividades em etanol, evidenciando a necessidade do desenvolvimento de cepas eficientes e de estratégias de cultivo adequadas para potencializar o desempenho do processo. Além disso, as enzimas hidrolíticas produzidas durante o BPC caracterizam valioso co-produto do processo, podendo compor o portfólio de produtos da planta, contribuindo para a viabilidade econômica do processo. Neste contexto, a presente proposta de doutorado pretende desenvolver o BPC de bagaço e palha de cana visando a utilização da biomassa em sua totalidade para a produção de etanol 2G e de um coquetel de enzimas hidrolíticas. Para isso será utilizada a levedura recombinante *Saccharomyces cerevisiae* AC14, que produz sete enzimas hidrolíticas diferentes, a qual foi desenvolvida pelo grupo do Prof. Johan Thevelein da empresa belga NovelYeast, colaboradora deste projeto. Em um primeiro momento, a operação do processo com diferentes cargas de biomassa será avaliada a fim de se estabelecer uma condição de operação com elevada carga de sólidos. Como tecnologias que propõem o uso de microrganismos juntamente com biomassas sólidas apresentam a dificuldade de recuperação e reaproveitamento do biocatalisador, pretende-se avaliar o processo operando com a levedura imobilizada para viabilizar sua reutilização. Por fim, estudos de recuperação das enzimas hidrolíticas em micropartículas magnéticas serão realizados visando a obtenção de um coquetel enzimático de elevada capacidade catalítica.

Maiores informações em:

<https://www.youtube.com/watch?app=desktop&v=bvLab6xQqIU&feature=youtu.be>

**Palavras-chaves:** bioprocessamento consolidado; células imobilizadas; etanol 2G; produção de enzimas