

**TEMAS DE DOUTORADO**  
**AP-3: ENGENHARIA BIOQUÍMICA**

**EDITAL Nº 04/2022 – INGRESSO NO 1º SEMESTRE DE 2023**

**OBSERVAÇÃO:** PARA CONTACTAR O DOCENTE, ACESSE <https://www.ppgeq.ufscar.br/pt-br/docentes>

**ÁREA DE PESQUISA: Engenharia Bioquímica**

**PROFESSOR ORIENTADOR: Adilson José da Silva**

**TÍTULO: Produção de fenazinas naturais em *E. coli* para aplicação em baterias**

**RESUMO:**

As fenazinas são uma classe de metabólitos secundários produzidos por algumas espécies de microrganismos. Essas biomoléculas apresentam anéis aromáticos nitrogenados capazes de sofrer reações reversíveis de óxido-redução e, neste projeto, esta característica particular será explorada para o desenvolvimento de baterias de íons zinco. Para viabilizar esse estudo, será produzido um conjunto de fenazinas de forma heteróloga utilizando células de *E. coli*. Para isso, os genes envolvidos na biossíntese das fenazinas selecionadas serão clonados e expressos utilizando vetores baseados em *BioBricks*, e a linhagem produtora terá sua via de produção de compostos aromáticos otimizada. As fenazinas produzidas serão utilizadas na confecção de catodos orgânicos e avaliadas para o desenvolvimento de baterias de íons zinco em meio aquoso. Essa configuração inédita combina a segurança e baixo custo dos dispositivos baseados em zinco com o uso de compostos orgânicos de origem biológica, gerando um produto ambientalmente mais amigável e sustentável que as baterias de íons lítio atualmente utilizadas nos dispositivos eletrônicos portáteis. Dessa forma, pretende-se gerar uma plataforma de produção de fenazinas por via fermentativa combinada ao desenvolvimento de novos dispositivos de armazenamento de energia eficientes e sustentáveis.

**PALAVRAS-CHAVE: Engenharia Metabólica, fábricas celulares, catodos orgânicos, bateria de íons zinco.**

**ÁREA DE PESQUISA: Engenharia Bioquímica**

**DOCENTE ORIENTADOR: Alberto Colli Badino Junior**

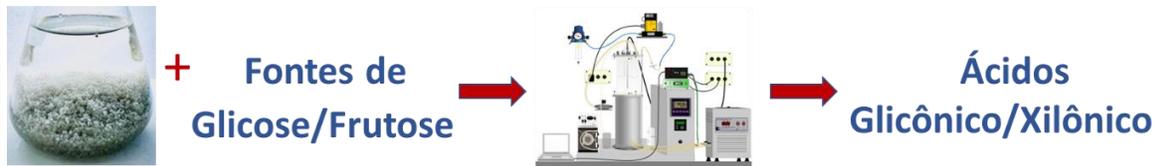
**TÍTULO: Avaliação da produção de ácido glicônico em biorreatores pneumáticos utilizando *whole-cells* como biocatalisadores**

O ácido glucônico (AG) é composto obtido a partir da oxidação da glicose e amplamente utilizado nas indústrias química, farmacêutica, alimentícia e de construção civil.

É produzido industrialmente a partir de cultivos aeróbios utilizando o fungo *Aspergillus niger*. Tal processo requer meios de cultura complexos para atender o crescimento celular, apresenta riscos de contaminação e a necessidade de diferentes etapas de recuperação do produto. Uma outra forma de se produzir esse ácido é a partir de processos enzimáticos que, no entanto, apresentam custo elevado devido ao alto preço das enzimas comerciais, inviabilizando a produção em larga escala.

Alternativamente aos processos anteriores, propõe-se a utilização de “whole-cells” ou “células em condições de não crescimento” na produção de AG, que se apresentam como biocatalisadores robustos, de baixo custo e reutilizáveis. No caso da produção de AG, seleciona-se “whole-cells” de microrganismos selvagens não patogênicos que possuam as enzimas constitutivas glicose oxidase (GOD) e catalase (CAT), responsáveis por catalisar a oxidação de glicose a AG.

Nesse tema de doutorado pretende-se avaliar a produção de AG em biorreatores pneumáticos (coluna de bolhas e airlift) a partir de diferentes matérias primas como fontes potenciais de glicose utilizando e “whole cells” como catalisadores. Propõe-se uma abordagem de processo onde serão avaliadas a demanda e a transferência de oxigênio, a identificação das etapas controladoras e o modo de operação do biorreator, visando otimizar condições de operação de forma a maximizar a produção de AG.



**Palavras-chaves:** ácido glicônico; *whole-cells*; transferência de oxigênio, biorreator coluna de bolhas, biorreator airlift.

**ÁREA DE PESQUISA: Engenharia Bioquímica**

**DOCENTE ORIENTADOR: Alberto Colli Badino Junior**

**TÍTULO: Avaliação da fermentação alcoólica extrativa com altos teores de substrato (VHG) e de células (HCD) com levedura termotolerante**

Na safra de 2020/2021, a produção de etanol no Brasil, majoritariamente a partir de sacarose (etanol 1G), alcançou cerca de 27,7 bilhões de litros, representando 27% da produção mundial, ficando atrás apenas da produção dos Estados Unidos que detêm 55% da produção global (Renewable fuels association, 2021).

Apesar de já bem estabelecido, o processo de produção de etanol ainda apresenta limitações técnicas e pode ser melhorado com o desenvolvimento e implantação de novas tecnologias visando o aumento da produção e a redução de custos. O baixo teor de etanol alcançado no vinho é a principal limitação do processo de fermentação alcoólica nas destilarias. O etanol se acumula do caldo fermentativo e atinge níveis tóxicos, agindo como inibidor não competitivo do metabolismo da levedura e afetando a produtividade do processo. Uma das formas de contornar este problema é a produção de etanol em cultivos sob temperaturas mais altas e por fermentação extrativa removendo continuamente o inibidor (etanol) do caldo fermentativo. Nos últimos anos, nosso grupo de pesquisa tem avançado em estudos relacionados com a fermentação alcoólica extrativa promovendo a remoção de etanol por CO<sub>2</sub> pela técnica conhecida por esgotamento (*stripping*). Alternativamente, a melhoria do desempenho do processo em termos de produtividade e diminuição da produção de vinhaça pode ser conquistada pela utilização de leveduras termotolerantes. Nesse sentido, o presente tema de tese tem como objetivo avaliar a fermentação alcoólica extrativa utilizando levedura termotolerante isolada de uma unidade industrial de produção de etanol. Pretende-se numa primeira etapa avaliar as fermentações alcoólicas convencional e extrativa em temperaturas de até 40 °C sob diferentes condições de remoção de etanol (*stripping* com CO<sub>2</sub>) e sem/com reativação da levedura. Numa etapa subsequente, propõe-se realizar fermentações alcoólicas extrativas nas melhores condições de remoção de etanol com altas cargas de substrato (Fermentação VHG) e de células (Fermentação HCD) e comparar os resultados com os obtidos nas fermentações convencionais sem a remoção de etanol.

**Palavras-chaves:** bioetanol, fermentação alcoólica extrativa, processo integrado, *stripping*, alta carga de substrato (Fermentação VHG), alta carga de células (Fermentação HCD).

**ÁREA DE PESQUISA:** Engenharia Bioquímica

**PROFESSOR ORIENTADOR:** Profa. Dra. Fernanda Perpétua Casciotori

**TÍTULO:** Produção contínua de celulasas por fermentação em estado sólido integrada à sua recuperação e aplicação na cadeia de etanol de segunda geração

**OBSERVAÇÃO:** "Este tema está incluído na área de abrangência do PRH 39 ANP/FINEP – Biocombustíveis e Energias Alternativas – e poderá ser beneficiado com bolsa de estudos deste Programa. Mais informações sobre o PRH 39 podem ser obtidas no link: <https://www.deq.ufscar.br/pt-br/prh-anp/prh-anp-1>"

**RESUMO:** Desenvolver matrizes energéticas renováveis tornou-se estratégico diante da crescente preocupação mundial com a sustentabilidade ambiental. No Brasil, o conceito de biorrefinaria emerge como de indústria centrada na produção de biocombustíveis e outras biomoléculas de alto valor agregado. Com ênfase na produção de etanol de segunda geração (E2G) por via bioquímica, a produção de celulasas na própria biorrefinaria (*in house*) pode garantir sua autossuficiência dessas enzimas enquanto insumos. Isso pode ser conseguido anexando-se, à planta principal, uma unidade de produção de enzimas por fermentação em estado sólido (FES), que emprega como matérias-primas subprodutos da biorrefinaria. No entanto, para se tornarem industrialmente viáveis, os bioprocessos de FES ainda requerem pesquisa e desenvolvimento de biorreatores e de operações *downstream*, além de ser necessário caracterizar e validar a aplicação dos bioprodutos obtidos. Diante do exposto, neste projeto, propõe-se estudar o cultivo do fungo termofílico *Myceliophthora thermophila* I-1D3b em substrato composto por bagaço de cana e farelo de trigo em biorreator de leito empacotado (BLE) operado continuamente. O BLE consistirá em uma coluna constituída por módulos independentes, que serão movimentados como em um reator de escoamento pistonado ao longo do tempo de cultivo. Será variada a taxa de aeração e o tempo total de cultivo. Cada módulo com material fermentado retirado do BLE será encaminhado para operações *downstream*, que serão divididas em duas vias: obtenção de extrato enzimático líquido e de material sólido com atividade enzimática de endoglucanase. No caso do extrato líquido, será testada a extração por percolação com água destilada. No caso do sólido, será testada a secagem do material por percolação com ar quente e seco. Nos dois casos, será variada a vazão de fluido e o tempo de processo, com o material fermentado sendo mantido no próprio módulo. O extrato líquido passará por etapas de concentração por precipitação. O extrato concentrado e o sólido seco serão caracterizados em termos de pH e temperatura ótimos, termoestabilidade e parâmetros cinéticos. Por fim, serão aplicados na hidrólise de bagaço de cana para obtenção de açúcares fermentescíveis. Ao final do projeto, espera-se ter um bioprocessos e dois tipos de bioprodutos passíveis de patenteamento e de aplicação industrial, a partir de uma abordagem completa que ainda é inédita na literatura de FES.

**PALAVRAS-CHAVE:** biorreatores; bioprocessos; enzimas; bioenergia; biocombustíveis.

**ÁREA DE PESQUISA: Engenharia Bioquímica**

**DOCENTE ORIENTADOR: Teresa Cristina Zangirolami**

**TÍTULO: Desenvolvimento de processo contínuo de produção de frutooligossacarídeos utilizando biocatalisadores imobilizados**

**RESUMO**

Os frutooligossacarídeos (FOS) são oligômeros de frutose com baixo valor calórico. Esses açúcares são naturalmente indigeríveis e, quando consumidos, estimulam o crescimento de microrganismos benéficos presentes no trato gastrointestinal de humanos e, portanto, são considerados prebióticos. Adicionalmente esses oligômeros apresentam de 40 a 60% do poder edulcorante da sacarose, podendo ser consumidos por diabéticos e sendo usados frequentemente pelas indústrias farmacêuticas e de alimentos como açúcares funcionais. Apesar de suas características interessantes, os FOS não são produzidos industrialmente no Brasil, sendo o seu uso dependente de importação. O país carece de tecnologia capaz de produzi-los a baixo custo, em larga escala e com rendimentos satisfatórios, visto que o alto custo para a produção da enzima frutossiltransferase (FTase) ainda torna o processo biotecnológico economicamente inviável. Neste sentido, o uso de biocatalisadores imobilizados possui a vantagem de facilitar recuperação da FTase e sua reutilização em bateladas consecutivas ou ainda em reatores operados em modo contínuo. Adicionalmente, a aplicação de biocatalisadores imobilizados facilita as etapas de separação e purificação do produto, potencialmente reduzindo os custos do processo. Neste contexto, essa proposta de doutorado pretende desenvolver um processo contínuo de produção de FOS aplicando biocatalisadores imobilizados. Em uma primeira etapa, a imobilização e estabilização da enzima FTase de *Aspergillus oryzae* IPT-301 em diferentes suportes será avaliada, incluindo sílicas modificadas e partículas paramagnéticas. A melhor enzima imobilizada será selecionada para o estudo da produção contínua de FOS. Em um segundo momento, será avaliada a imobilização de células íntegras para a produção contínua de FOS. Ambos os processos ainda serão empregados na produção de FOS utilizando o melão de cana, visando assim a futura integração desta tecnologia em biorrefinarias. Por fim, serão realizados estudos para a purificação dos FOS produzidos em ambos os processos, iniciando-se pelos procedimentos mais simples, e incrementando-se etapas até atingir grau de purificação alimentício, porém sempre tendo em foco também o caráter econômico do processo. Espera-se assim selecionar o biocatalisador adequado e estabelecer um processo de produção contínua de FOS a partir de substrato de baixo custo, com potencial para integração em biorrefinarias. Maiores informações em:

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

**Palavras-chaves:** frutooligossacarídeos; biocatalisadores imobilizados; processo contínuo; purificação de biomoléculas

**ÁREA DE PESQUISA: Engenharia Bioquímica**

**DOCENTE ORIENTADOR: Teresa Cristina Zangirolami**

**TÍTULO: Bioprocessamento consolidado de coprodutos da indústria sucroenergética para a coprodução 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 utilizados 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 coproduto 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