

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 em substituição à derivados do petróleo para produção 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, 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, as células produtoras serão engenheiradas para produzir o 3-HP diretamente a partir do glicerol derivado da produção de biodiesel. Na sequência do trabalho, serão realizados cultivos em biorreatores buscando-se atingir metas de viabilidade técnica, econômica e ambiental para o processo. Assim, ao final, pretende-se chegar à construção de uma linhagem de *E. coli* eficiente para produção de 3-HP a partir de uma fonte barata e renovável, e em um processo viável para implementação industrial, além da 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.

Para a realização deste trabalho, procura-se um candidato com formação na área de Engenharia Química, Biotecnologia, Química, ou áreas afins, com interesse em estudos envolvendo engenharia genética de microrganismos e desenvolvimento de processos sustentáveis para a indústria química. Não há exigência de experiência prévia na área.

O projeto deve proporcionar ao doutorando a aquisição de conhecimentos sólidos para o desenvolvimento de bioprocessos industriais, entre os quais destacam-se:

- técnicas de cultivo de microrganismos em frascos agitados e reatores de bancada;
- procedimentos de biologia molecular, como clonagem e deleção de genes, para construção de microrganismos geneticamente modificados;
- utilização de softwares de bioinformática;
- técnicas analíticas aplicadas à quantificação de ácidos orgânicos, DNA, proteínas, etc;
- redação de artigos e relatórios científicos.

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

ÁREA DE PESQUISA: Engenharia Bioquímica

DOCENTE ORIENTADOR: Cristiane Sanchez Farinas (Embrapa Instrumentação) e Paulo Waldir Tardioli (DEQ/UFSCAr)

TÍTULO: Uso de Terra de Diatomáceas como Matriz para Imobilização de Enzimas na Agricultura

RESUMO

A crescente demanda por práticas agrícolas mais sustentáveis e eficientes tem incentivado a pesquisa de novas tecnologias para melhorar a produtividade e a saúde das plantas. Neste contexto, o uso de enzimas tem emergido como uma estratégia promissora para otimizar processos agrícolas, como a decomposição de matéria orgânica, controle de pragas e doenças, e a melhoria da disponibilidade de nutrientes. No entanto, a estabilidade das enzimas frente às condições de estresse encontradas no campo ainda precisa ser melhorada. Este projeto de doutorado propõe investigar a utilização da terra de diatomáceas (TD) como matriz para a imobilização de enzimas de interesse agrícola, devido às suas propriedades únicas, como alta porosidade, grande área de superfície específica, e biocompatibilidade. Além disso, a TD é amplamente reconhecida por sua ação antipragas, o que potencializa seus benefícios no contexto agrícola. O projeto envolve estudos para caracterizar fisicamente e quimicamente a TD, avaliando parâmetros como tamanho de partícula, porosidade, área de superfície e composição química. Técnicas como microscopia eletrônica de varredura (MEV) e análise de superfície por adsorção de nitrogênio (BET) serão utilizadas. Este conhecimento é crucial para otimizar as condições de imobilização enzimática. Enzimas relevantes para a agricultura, como fosfatases, celulasas, lipases, quitinases e proteases, serão selecionadas para imobilização na TD. Serão investigados diferentes métodos de imobilização, incluindo adsorção física e a ligação covalente. A eficiência de imobilização será avaliada por ensaios de atividade enzimática, com o objetivo de maximizar a estabilidade e funcionalidade das enzimas no ambiente agrícola. A eficiência das enzimas imobilizadas será testada em ensaios *in vitro* e em casa de vegetação, aplicando as preparações enzimáticas em solos e plantas. Serão monitorados parâmetros como decomposição de matéria orgânica, crescimento das plantas, absorção de nutrientes e controle de pragas. Este projeto visa demonstrar a viabilidade do uso de TD como suporte para enzimas, proporcionando uma solução inovadora e sustentável para a agricultura, com potencial para aumentar a eficiência dos processos agrícolas.

Palavras-chaves: Enzimas; Agricultura; Terra Diatomácea; Controle de pragas

ÁREA DE PESQUISA: Engenharia Bioquímica

PROFESSOR ORIENTADOR: Profa. Dra. Fernanda Perpétua Casciotori

TÍTULO: Produção, recuperação e estabilização de agente de controle biológico de pragas agrícolas por cultivo em estado sólido: substratos alternativos, ampliação de escala e formulações

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 ampliação de escala e 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 a produção de conídios do fungo *Trichoderma asperellum* por cultivo em estado sólido empregando materiais alternativos ao arroz como substratos, assim como para sua recuperação e estabilização, tendo em vista a formulação de produtos líquidos ou sólidos para controle biológico de pragas agrícolas. Serão conduzidos inicialmente testes em escala de frascos para avaliação dos substratos alternativos, já levando em conta a posterior ampliação de escala para biorreator de leito empacotado, para o que as propriedades estruturais do meio de cultivo são tão relevantes quanto as nutricionais. Ao final do cultivo, serão testados fluidos variados para extração do agente biológico ativo, 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, assim como testes de extração em tanque de mistura e ainda secagem do material cultivado para testes de aplicação direta. Por fim, o extrato será destinado a operações de concentração por evaporação a vácuo, precipitação fracionada, liofilização e spray drier, além da formação de grânulos e a formulação de grânulo molhável. Testes de antagonismo contra pragas alvo serão realizados em diferentes etapas do trabalho. Espera-se, ao final do trabalho, ter desenvolvido um processo eficiente de produção e recuperação da biomassa celular, estabilizada em formulação capaz de garantir manutenção da atividade biológica durante o armazenamento e a aplicação no campo.

PALAVRAS-CHAVE: biorreatores; bioprocessos; controle biológico; formulações.

ÁREA DE PESQUISA: Engenharia Bioquímica

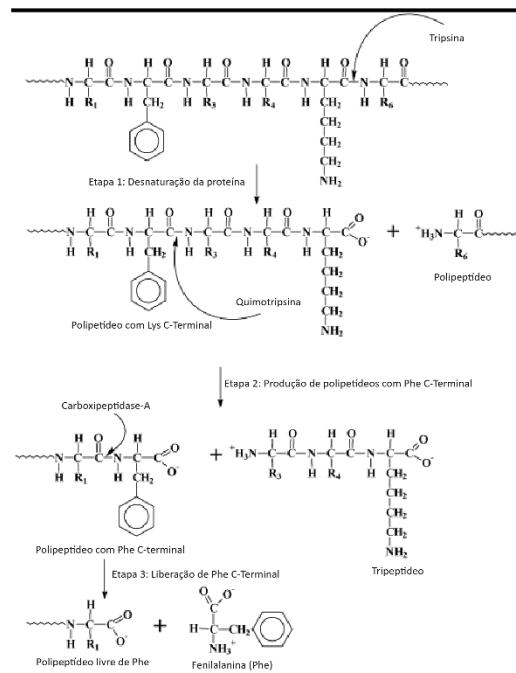
DOCENTE ORIENTADOR: Paulo Waldir Tardioli

TÍTULO: Desenvolvimento de bioprocesso multienzimático em cascata para a produção de alimento infantil livre de fenilalanina

RESUMO. A fenilcetonúria (PKU) é um distúrbio do metabolismo de aminoácidos que ocorre em bebês que nascem sem a capacidade de decompor normalmente um aminoácido denominado fenilalanina (Phe) em tirosina (Tyr), que se acumula no sangue causando danos ao cérebro. Dentre os sintomas comuns de portadores de fenilcetonúria, incluem deficiência mental, convulsões, náusea e vômitos. O diagnóstico precoce, baseado em exame de sangue, é essencial para que se faça o tratamento adequado, garantindo o desenvolvimento normal de crianças diagnosticadas com essa enfermidade. Dieta restrita em Phe permite crescimento e desenvolvimento normais de fenilcetonúricos. Neste contexto, esse projeto tem por objetivo preparar um alimento infantil livre de Phe a partir da hidrólise controlada de proteínas do soro de leite usando um sistema multienzimático capaz de produzir um hidrolisado contendo peptídeos livres de Phe em sua estrutura química. As enzimas envolvidas neste processo são endo- e exo-proteases específicas capazes de remover o aminoácido-alvo da cadeia

polipeptídica (ver Figura ao lado). A primeira enzima, chamada tripsina (uma endoprotease), é responsável por desnaturar as proteínas do soro (α -lactoalbumina, β -lactoglobulina, albuminas e imunoglobulinas), tornando os resíduos de aminoácidos hidrofóbicos mais acessíveis à atuação da segunda endoprotease (chamada quimotripsina), responsável por gerar poli(oligo)peptídeos com terminações carboxílicas contendo aminoácidos hidrofóbicos, dentre eles a Phe. Por fim, a terceira enzima, uma exoprotease específica (chamada carboxipeptidase-A) é responsável por liberar a Phe para o meio reacional, a qual poderá ser removida do produto por processos de separação adequados. Neste projeto será desenvolvido um biocatalisador multienzimático heterogêneo tipo

“core-shell” para remoção de Phe das proteínas do soro de leite. O produto, livre de Phe, será seco por liofilização para formulação de um alimento em pó. Ensaios *in-vivo* serão realizados a fim de se validar a eficiência do produto e a segurança para uso por crianças portadoras de PKU.



Palavras-chaves: Fenilcetonúria; Soro de Leite; Enzimas; fórmula livre de fenilalanina

ÁREA DE PESQUISA: Engenharia Bioquímica

DOCENTE ORIENTADOR: Thais Suzane Milesi Esteves

TÍTULO: Desenvolvimento de processo contínuo de produção de frutooligossacarídeos utilizando biocatalizadores 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 do 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 frutotransferase (FTase) ainda torna o processo biotecnológico economicamente inviável. Neste sentido, o uso de biocatalisadores imobilizados possui a vantagem de facilitar a sua recuperação e 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 melaço 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; biocatalizadores imobilizados; processo contínuo; purificação de biomoléculas