II SIMPÓSIO DE ENGENHARIA BIOQUÍMICA E DE BIOPROCESSOS

REALIZAÇÃO

APOIO

CAMPUS CARREIROS - FURG

28 e 29 de agosto - Rio Grande - RS

ISBN

978-85-7566345-5

Título

II Simpósio de Engenharia Bioquímica e de Bioprocessos

Ano edição

2014

Tipo de suporte

E-BOOK – PDF

Páginas

23

Editor (a)

EDITORA DA FURG

CINÉTICA DA PRODUÇÃO DE ANIDRASE CARBÔNICA POR *Synechococcus nidulans*

Amarante MCA[1]; Ores JC[1]; Kalil SJ[1]

[1]Laboratório de Microbiologia e Biosseparações – Universidade Federal do Rio Grande (FURG)

A anidrase carbônica é uma metaloenzima conhecida por catalisar a hidratação reversível do CO_2 em bicarbonato e pode ser encontrada em diferentes organismos, uma vez que desempenha papel fundamental em processos biológicos como fotossíntese e respiração. A enzima anidrase carbônica vem sendo amplamente estudada para utilização em sistemas biológicos de captura ou sequestro de CO_2 atmosférico que se baseiam em reações que já ocorrem naturalmente nos seres vivos. As algas e cianobactérias, que possuem grande importância industrial no momento, são fonte potencialmente atrativa desta enzima, que é intracelular, sendo necessária uma etapa de rompimento celular. Sendo assim, o objetivo do trabalho foi acompanhar a produção da enzima anidrase carbônica durante o cultivo de *Synechococcus nidulans*. A cianobactéria utilizada nesse trabalho foi gentilmente cedida pelo Laboratório de Engenharia Bioquímica da FURG, e cultivada em meio Zarrouk 20 % em biorreatores de 1 L, a 25 ºC, iluminância de 40,5 $\mu E/m^2.s$, fotoperíodo fixado em 12 h claro/escuro, e agitação por injeção de ar estéril (0,5 vvm). Os cultivos foram realizados em triplicata e monitorados em termos de biomassa, pH e atividade de anidrase carbônica. O rompimento celular para extração da enzima foi realizado utilizando um homogeneizador ultrassônico com frequência de 20 kHz por 4 min em banho de gelo e concentração de 0,2 g de biomassa/L. Após o rompimento celular, as suspensões foram centrifugadas e o sobrenadante utilizado para determinar a atividade enzimática. A atividade volumétrica máxima para a cianobactéria foi de 41,8 ± 1,3 U/L, alcançada no 37º dia de cultivo. A atividade enzimática específica permaneceu praticamente constante até o 16° dia de cultivo, aumentando gradativamente a partir deste ponto até o pico máximo de 45,3 ± 7,2 U/g, também no 37° dia. Este aumento, ainda na fase logarítmica, indica que a produção da anidrase carbônica pela microalga *S. nidulans* está parcialmente associada ao crescimento. A concentração máxima de biomassa alcançada para a *Synechococcus nidulans* foi de 1,139 ± 0,061 g/L, e o pH manteve-se em torno de 10 durante todo o cultivo. Através dos resultados obtidos neste trabalho, pode-se verificar a potencialidade das cianobactérias para produção e obtenção da enzima anidrase carbônica, biomolécula de alto valor agregado.

Agradecimentos: CAPES, CNPq, e Laboratório de Engenharia Bioquímica da Universidade Federal do Rio Grande.

Palavras-chave: atividade enzimática; cianobactéria; biomassa

INCREMENTO NA PRODUÇÃO DE GOMA XANTANA POR *Xanthomonas campestris mangiferaeindicae* IBSBF 1230 POR STRESS ALCALINO

Munhoz AP[1]; Trindade RA[1]; Burkert CAV[1]

[1]Laboratório de Engenharia de Bioprocessos - Universidade Federal do Rio Grande (FURG)

A goma xantana é produzida pela bactéria fitopatogênica *Xanthomonas campestris*, ocupando um lugar de destaque por suas propriedades reológicas diferentes das outras gomas microbianas, tais como um marcante comportamento pseudoplástico, viscosidade elevada mesmo em baixas concentrações, solubilidade e estabilidade em soluções ácidas e alcalinas, resistência à degradação em elevadas temperaturas e em diferentes valor de pH. Sendo assim, sua aplicação na indústria de alimentos, farmacêutica e petroquímica é de extrema importância. O objetivo do presente trabalho foi verificar o efeito do stress alcalino na produção da goma xantana produzida pela bactéria *Xanthomonas campestris mangiferaeindicae* IBSBF 1230. O inóculo foi preparado com meio contendo ($g.L^{-1}$): 3 extrato de levedura; 3 extrato de malte; 5 peptona; 20 glicose; pH 7,2. Quando o valor de densidade ótica recomendado (2,0) foi atingido, 10 mL do inóculo foram transferidos para 90 mL de meio contendo ($g.L^{-1}$): 50 sacarose; 2,5 $NH_4H_2PO_4$; 5,0 K_2HPO_4; 0,006 H_3BO_3; 2 $(NH_4)_2SO_4$; 0,0024 $FeCl_3$; 0,002 $CaCl_2.2H_2O$; 0,002 $ZnSO_4$; pH 7,0. Os cultivos foram realizados em triplicata em uma incubadora refrigerada a 28ºC e 200 rpm, por um período de 48 h. Neste tempo, na metade dos frascos foram adicionados 5 mL de solução de NaOH 2 M, para que o pH do meio chegasse a aproximadamente 11, sendo estes deixados na incubadora por mais 1 h para promover o stress alcalino na bactéria em estudo. Em todos os frascos o caldo foi centrifugado (30 min a 4ºC) para remoção de células, seguido da precipitação da goma a ± 4ºC por 24 h com etanol 96,4ºGL (1:4 $v.v^{-1}$), nova centrifugação, sob refrigeração, e secagem em estufa até massa constante. A concentração da goma xantana encontrada no cultivo sem o stress alcalino foi de 4,56 ± 0,37 $g.L^{-1}$. Já quando aplicado o stress alcalino este resultado foi de 10,64 ± 0,18 $g.L^{-1}$, correspondendo a um incremento na concentração da goma de 2,33 vezes. Pode-se concluir que a bactéria *X. campestris mangiferaeindicae* IBSBF 1230 foi capaz de produzir quantidades bastante significativas de goma xantana quando aplicado o stress alcalino, sendo necessário um estudo mais aprofundado para verificar se este acentuado aumento na produção da goma irá acarretar mudanças na sua estrutura.

Palavras-chave: *Xanthomonas*, biopolímeros, stress alcalino.

PRODUÇÃO DE PROTEÍNAS E CARBOIDRATOS PELA MICROALGA *Spirulina* sp. LEB 18 EM CULTIVO SEMICONTÍNUO

Corá J[1]; Terra ALM[1]; Moreira JB[1]; Costa JAV[1]; Morais MG[1]

[1] Laboratório de Engenharia Bioquímica, Universidade Federal do Rio Grande – FURG

As microalgas são consideradas como um sistema biológico eficiente para a captação de energia solar e produção de componentes orgânicos. Cultivos semicontínuos tornam-se alternativas para produção em maior escala, mantendo o micro-organismo em elevadas velocidades de crescimento. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi avaliar a síntese de proteínas e carboidratos pela microalga *Spirulina* sp. LEB 18 cultivada em modo semicontínuo. A microalga *Spirulina* sp. LEB 18 foi mantida em meio Zarrouk e Zarrouk modificado com 10% (v/v) de CO_2, sob condições controladas em câmara termostatizada a 30ºC, 41,6 µmol/m².s e fotoperíodo 12 h claro/escuro. Os cultivos foram conduzidos em reatores tubulares verticais com volume útil de 1,5 L, em modo semicontínuo. As taxas de renovação estudadas foram 20 e 40% (v/v). A agitação nos cultivos foi promovida pela injeção de ar comprimido, na vazão de 0,3 vvm. O ar foi enriquecido com 10% (v/v) de CO_2, sendo a injeção desse gás realizada a cada 2 h, durante 10 min, no período claro. O teor de carboidratos foi avaliado pelo método fenol-sulfúrico de *Dubois* e proteínas pelo método colorimétrico de *Lowry*. Os resultados foram avaliados por Análise de Variância (ANOVA), com nível de confiança de 95% ($p \leq 0,05$), utilizando teste de Tukey. Os maiores teores proteicos foram encontrados nos ensaios com 10% (v/v) de CO_2, 60,1±1,18 e 59,7±1,66% (p/p) a partir dos cultivos com taxa de renovação de 20 e 40% (v/v), respectivamente. Na biomassa da microalga *Spirulina* sp. LEB 18 foi observada relação inversa no teor de proteínas e carboidratos. Nos ensaios em que foram obtidas as maiores concentrações proteicas (ensaios com 10% (v/v) de CO_2) se encontrou os menores teores de carboidratos. Os valores máximos de carboidratos foram obtidos quando a microalga foi mantida em meio Zarrouk, sendo 19,1±0,97% (p/p) na biomassa quando a microalga foi cultivada com taxa de renovação de 20% (v/v) e 18,8±1,00% (p/p) com a renovação de 40% (v/v). Assim, a biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18, por meio de seu conteúdo proteico e de carboidratos, apresenta potencial para obtenção de bioprodutos como biopeptídeos e bioetanol, reduzindo ainda as emissões de CO_2 para a atmosfera.

Palavras-Chave: Biomassa; Bioprodutos; Semicontínuo; Taxa de renovação.

BIOFIXAÇÃO DE CO_2 POR MICROALGAS CULTIVADAS COM EFLUENTES GASOSOS E RESÍDUOS SÓLIDOS DE TERMELÉTRICA

Vaz, BS[1]; Xavier, BHP[1]; Morais, MG[1]; Costa, JAV[2]

[1.] Laboratório de Microbiologia e Bioquímica, Escola de Química e Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande, 96203-900, Rio Grande – RS, Brasil.

[2]. Laboratório de Engenharia Bioquímica, Escola de Química e Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande, 96203-900, Rio Grande, RS, Brasil.

A concentração de dióxido de carbono (CO_2) na atmosfera aumentou de 280 ppm para 400 ppm nos dez últimos anos, sendo as usinas a carvão responsáveis por cerca de 22% dessas emissões. A queima do combustível fóssil também produz grande quantidade de resíduos sólidos (cinzas de carvão mineral) que causam graves problemas industriais e ambientais. Os processos biológicos tornam-se uma alternativa interessante no combate à poluição e na geração de novos produtos. O objetivo deste trabalho foi cultivar microalgas com efluentes gasosos e resíduos sólidos provenientes da Usina Termelétrica Presidente Médici para biofixação de CO_2. As microalgas *Spirulina* sp. LEB 18 e *Chlorella fusca* LEB 111 foram cultivadas com CO_2 sintético, gás de combustão e resíduos sólidos (cinzas) de origem termelétrica. Os meios de cultivo modificados utilizados foram o BG11 e Zarrouk, para *Chlorella fusca* LEB 111 e *Spirulina* sp. LEB 18, respectivamente. As cinzas foram adicionadas na concentração de 40 ppm ao meio de cultivo de cada microalga. Os cultivos foram conduzidos de modo descontínuo em fotobiorreatores fechados do tipo erlenmeyer de 2,0 L, a 30 ºC com fotoperíodo 12 h claro/ escuro. A agitação dos cultivos foi realizada por meio de ar comprimido estéril misturado ao gás disposto em cilindro industrial, com vazão de 0,05 vvm contendo 10% (v/v) de CO_2 ou gás de combustão. O ar foi injetado aos cultivos através de aspersor de cortina porosa fixado na base dos biorreatores. Os gases foram adicionados às culturas durante 10 min a cada 2 h no período claro de cultivo. A microalga *Chlorella fusca* LEB 111 apresentou maior biofixação diária máxima de CO_2 (42,8%) que *Spirulina* sp. LEB 18 (8,9%). Os parâmetros cinéticos dos cultivos realizados com gás de combustão, com ou sem adição de cinzas, não diferiram estatisticamente dos experimentos com CO_2 e entre as fontes de carbono do meio não houve diferença estatística quanto à biofixação e parâmetros cinéticos para *Spirulina* e *Chlorella*. As microalgas podem ser cultivadas com cinzas de carvão mineral, utilizando os minerais encontrados nesses resíduos como fonte de metais essenciais para o crescimento e CO_2 do gás de combustão como fonte de carbono, o que representa grande parte dos custos de produção para estes micro-organismos.

Palavras-chave: carvão mineral; cinzas; *Spirulina* sp. LEB 18; *Chlorella fusca* LEB 111.

AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES FUNCIONAIS DE HIDROLISADOS PROTEICOS DE *Spirulina* sp. LEB 18

Pereira, AM[1]; Lisboa, CR[1]; Costa, JAV[1].

[1]Laboratório de Engenharia Bioquímica - Universidade Federal do Rio Grande.

Spirulina é uma microalga fotossintética verde-azulada capaz de produzir biomassa a partir de energia solar, CO_2 e nutrientes. Seu cultivo, bem como sua biomassa, são amplamente estudados pela biotecnologia devido a sua importância nutricional, econômica e ecológica. A biomassa desta microalga possui elevado teor de proteínas e certificado GRAS (*Generally Recognized As Safe*) reconhecido pelo FDA (*Food and Drug administration*), o que garante o seu uso como alimento ou fármaco. A utilização de hidrolisados proteicos em formulações específicas na fabricação de alimentos, a fim de suplementar necessidades especiais como de recém-nascidos ou de indivíduos com intolerância a proteínas é uma área de crescente interesse. Embora a biomassa de *Spirulina* seja amplamente estudada para aplicação em alimentos, poucos estudos relatam suas propriedades quando hidrolisada. O objetivo do trabalho foi avaliar as propriedades funcionais de hidrolisados proteicos obtidos a partir da hidrólise enzimática da biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18. As reações de hidrólise da biomassa foram realizadas com a protease comercial Protemax 580L, de *Bacillus licheniformis* em tampão bicarbonato de sódio pH 9,5 a 60°C. A concentração de enzima foi fixa (5 $U.mL^{-1}$), a concentração de substrato (3,2 a 8,8 %) e o tempo de reação (80 a 220 min) foram determinados através de delineamento composto central rotacional (DCCR) (11 ensaios), a fim de estabelecer as melhores condições para obtenção do maior grau de hidrólise (GH). De acordo com os resultados do DCCR, o aumento do tempo de reação e a diminuição da concentração de substrato proporcionaram maiores GH. A solubilidade, capacidade de retenção de água (CRA) e digestibilidade dos hidrolisados proteicos e da biomassa *in natura* foram determinadas, sendo que os maiores valores obtidos foram os dos hidrolisados proteicos**.** Além disso, observou-se que o aumento do GH das proteínas gerou proporcional aumento das suas propriedades funcionais. A solubilidade, CRA e digestibilidade da biomassa da microalga *in natura* foram, respectivamente, 26,8 %, 9,55 % (ambos em pH 11) e 74,1 %. Para os hidrolisados proteicos com elevados GH (62,8 %) foi possível obter solubilidade de 81,0 %, valores próximos a 14 % para a CRA e 91,0 % de digestibilidade. O aumento das propriedades funcionais dos hidrolisados proteicos deve-se a mudança estrutural das proteínas, pois a proteína é clivada em unidades menores de peptídeos, sendo mais facilmente solubilizados, retendo mais água e facilitando também o processo de digestão. Pode-se concluir que o uso de hidrolisados proteicos da biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 é promissor para a aplicação em suplementos alimentares por apresentarem melhores propriedades funcionais comparados à biomassa intacta.

Palavras-chave: Hidrólise enzimática; microalga; suplemento alimentar.

TEOR DE CARBOIDRATOS DE *Spirulina* sp. LEB 18 E *Chlorella Fusca* LEB 111 CULTIVADAS COM CO_2

Fanka LS[1]; Duarte JH[1]; de Morais EG[1]; Cassuriaga APA[1]; Costa JAV[1]

[1] Laboratório de Engenharia Bioquímica – LEB, Escola de Química e Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande

A busca crescente por energia, requerida para o estilo de vida atual, é um dos principais causadores de problemas ambientais como o efeito estufa. Sendo assim, para que esta demanda energética seja suprida, há excesso da queima de combustíveis fósseis, como por exemplo, carvão mineral, o que gera grande emissão de gases como CO_2 para a atmosfera. Uma alternativa para redução das emissões destes gases é sua utilização como fonte de carbono no cultivo de microalgas, gerando biomassa aplicável para produção de diferentes bioprodutos de interesse industrial. O objetivo do presente trabalho foi avaliar teor de carboidratos das microalgas *Spirulina* sp. LEB 18 e *Chlorella Fusca* LEB 111, cultivadas utilizando como fonte de carbono CO_2. As microalgas foram cultivadas em erlenmeyer, com volume útil de 1,8 L e concentração celular inicial de 0,2 $g.L^{-1}$. Os cultivos foram mantidos em estufa termostatizada a 30ºC, com foto-período 12 h claro/escuro e iluminância de 41,6 $\mu mol.\ m^{-2}.s^{-1}$, fornecida através de lâmpadas florescentes. Foram realizadas diariamente análises de concentração celular em espectrofotômetro e pH em pHmetro digital. A análise de carboidratos foi determinada a partir de método espectrofotométrico proposto por Dubois. Os maiores valores de concentração celular máxima (1,23±0,54 $g.L^{-1}$), produtividade máxima (0,15±0,09 $g.L^{-1}.d^{-1}$) e velocidade específica máxima de crescimento (0,22±0,04 d^{-1}) foram obtidos no ensaio controle da microalga *Spirulina* sp. LEB 18. No ensaio utilizando CO_2 como fonte de carbono, *Spirulina* sp. LEB 18 apresentou crescimento celular máximo de 0,46±0,06 $g.L^{-1}$, aproximadamente 2,7 vezes menor queo ensaio controle. Porém, nos ensaios com *Chlorella fusca* LEB 111, utilizando como fonte de carbono CO_2, foram obtidos maiores valores de crescimento celular máximo (0,91±0,11 $g.L^{-1}$), produtividade máxima (0,08±0,01 $g.L^{-1}$) e velocidade específica máxima de crescimento (0,24±0,00 d^{-1}), quando comparado ao cultivo controle. A microalga *Chlorella fusca* LEB 111 é proveniente de região próxima à termelétrica, o que pode explicar os resultados obtidos. Os maiores teores de carboidratos foram obtidos na biomassa de *Chlorella fusca* LEB 111(32,61±1,88% e 34,40±0,91%, nos cultivos com CO_2 e controle, respectivamente). Nos experimentos com *Spirulina* sp. LEB 18 os teores de carboidratos nos cultivos com CO_2 e controle foram semelhantes, obtendo-se respectivamente 26,08±2,57 e 26,69±0,60. Paralelamente à biofixação de CO_2, os carboidratos obtidos a partir das biomassas microalgais analisadas podem ser utilizados para produção de diversos bioprodutos, como biocombustíveis.

Palavras-chave: microalgas, efeito estufa, bioprodutos.

EFEITO DA DO BENZO[A]PIRENO E β -NAFTOFLAVONA NA EXPRESSÃO GÊNICA DE GLUTATIONA S-TRANSFERASE PI1 EM ZEBRAFISH

Ribeiro, ES [1,2]; Mühl, M [1,2]; Cantele, M [1,2]; Sopeski, MS [1,3]; Zanette, J [1]

1- Grupo de Pesquisa Biomarcadores Ambientais, Instituto de Ciências Biológicas (ICB), Universidade Federal do Rio Grande (FURG)
2- Escola de Química e Alimentos (EQA), Universidade Federal do Rio Grande (FURG)
3 – Pós Graduação em Fisiologia Animal Comparada, Instituto de Ciências Biológicas (ICB), Universidade Federal do Rio Grande (FURG)

Zebrafish (*Danio rerio*) é um peixe comumente utilizado em toxicologia, tornando-se assim um peixe modelo com diversos trabalhos publicados nessa área. Peixes podem mostrar alterações na expressão de seus genes frente a exposição de certos compostos, como por exemplo os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PAHs). Estes compostos são contaminantes ambientais derivados da combustão incompleta de compostos de carbono e se tornaram uma classe de substâncias muito importante a ser monitorada e controlada em ambiente aquático. Existem mais de 400 tipos de PAHs e seus derivados, e dentre eles, destacamos o benzo[a]pireno (BaP), que é uma substância carcinogênica e muito tóxica. Entretanto, os seres vivos possuem alguns mecanismos de defesa contra estes compostos, como a biotransformação através da ação de enzimas como as Glutationa S-transferases (GSTs). As GSTs compõem uma família multigênica de enzimas de detoxificação, de localização citosólicas, microssomal (MAPEG) ou mitocondrial (Kappa). A GST é considerada uma enzima de biotransformação de contaminantes orgânicos e estudos mostram uma correlação positiva da atividade da GST com a concentração de PAHs. O objetivo deste experimento foi expor os peixes a dois contaminantes ambientalmente relevantes e analisar possíveis variações na expressão gênica da isoforma Glutationa S-transferase *GST-pi1* após 24 horas de exposição. Os peixes com um "n" de 10 por grupo, foram expostos a duas substâncias agonistas do receptor de hidrocarbonetos aromáticos (AHR) e pertencentes a classe dos PAHs: a β-naftoflavona na concentração de 1 μM e ao Benzo[a]pireno na concentração de 10 ηM. Em ambos os aquários usou-se estas substâncias em conjunto com acetona, que foi utilizado como carreador na concentração de 20 ppm. Imediatamente após a exposição o fígado dos animais foi retirado para a extração de RNA, que foi convertido em cDNA que foi analisado pela reação em cadeia da polimerase em tempo real (PCR-RT), para análise da expressão gênica da *GST-pi1*, usando como gene normalizador o transcrito *18s*. A estatística foi feita com base no programa ANOVA, com teste posteriori Tukey ($p<0,05$), e foi constatado que estes PAHs não induziram a *GST-pi1*. Com relação ao BaP não ter induzido a expressão de *GST-pi1* acredita-se que o tempo e a concentração do composto foram relativamente baixos, visto que outro trabalho observou uma pequena indução com uma concentração de 16 μM e em um tempo de exposição de 96 h. Entretanto, no caso da β-naftoflavona, não achou-se nenhuma referência de experimento utilizando este gene, então por enquanto só podemos concluir que esta substância não altera a expressão gênica da *GST-pi1*.

Palavras-chave: *Glutationa S-transferase*; *GST pi1*; toxicologia; zebrafish

HEPATÓCITOS DE *Danio rerio:* MANUTENÇÃO CELULAR

Toledo, AMN[1]; Machado, AR[1]; Votto, APS[2]; Souza-Soares, LA[1]

[1] Laboratório de Micotoxinas e Ciência de Alimentos, Escola de Química e Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande.
[2] Laboratório de Cultura Celular, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Rio Grande.

Danio rerio, também conhecido como Zebrafish, é um peixe tropical de água doce proveniente dos rios do Sul da Ásia. Como modelo animal de experimentação científica em ascensão, o *Danio rerio* tem sido utilizado em estudos relacionados a diversos campos científicos. Este modelo biológico possui vantagens em relação aos animais convencionais para experimentação como ratos, pois possuem uma excelente homologia imunológica, fisiológica e celular com mamíferos. Com estes dados, *Danio rerio* se tornou um ótimo modelo biológico no estudo de aspectos toxicológicos e de desenvolvimento. Cultura de células de fígado (hepatócitos) é um valioso modelo em estudos de toxicologia *in vitro.* Estas células podem ser utilizadas para estudar fatores que influenciam a expressão e regulação do sistema de oxidação do citocromo P450. Hepatócitos de Zebrafish estão sendo utilizados nestes ensaios desde que as pesquisas demonstraram que células desta linhagem apresentam propriedades em cultura que são associadas com células de fígado, *in vivo*. Os métodos para manutenção desta linhagem são realizados em câmara de fluxo laminar e incluem a remoção das células aderidas à superfície pela ação da tripsina e a troca do meio de cultura. Estes métodos têm sua importância na perpetuação do cultivo e no controle da densidade celular, sendo chamados de repique celular. Com o objetivo de verificar a efetividade desta técnica, foram feitas fotos de microscópio óptico, contagem de células e viabilidade celular em câmara de Neubauer. As fotos de microscopia são realizadas por máquina fotográfica acoplada ao microscópio. Estas indicam aspectos importantes na análise de viabilidade como morfologia característica e a verificação de não contaminação. A contagem celular em câmara de Neubauer é também realizada em microscópio óptico. Neste método, 50µL da suspensão celular, provinda da manutenção do cultivo, são homogeneizados com 50µL do corante Azul de Trypan em tubo de ensaio. Após esta etapa, o volume é inserido na lâmina e levada ao microscópio para a contagem. A técnica fornece resultados sobre a densidade celular e a quantidade de células viáveis e inviáveis de acordo com a absorção ou não do corante pelas células. Os resultados das análises de fotografias indicam que as células permanecem majoritariamente viáveis, aderidas à superfície e sem contaminação. As contagens em Câmara de Neubauer revelaram que a densidade celular se mantém em torno de 10^6 células/cm^3 com viabilidade celular acima de 98%. Conclui-se que os métodos de manutenção celular são efetivos para a permanência de células viáveis e no controle da densidade celular.

Palavras-chaves: linhagem ZFL; Zebrafish*;* repique celular;

PRODUÇÃO DE *SCAFFOLDS* DE NANOFIBRAS A PARTIR DE POLICAPROLACTONA CONTENDO BIOMASSA DE *Spirulina* sp. LEB-18

Schmatz DA[1]; Uebel LS[1]; Kuntzler SG[1]; Morais MG[1]; Dora CL[2]; Costa JAV[3]

[1] Laboratório de Microbiologia e Bioquímica, Universidade Federal do Rio Grande
[2] Laboratório de Nanotecnologia Aplicada a Saúde, Universidade Federal do Rio Grande
[3] Laboratório de Engenharia Bioquímica, Universidade Federal do Rio Grande

A nanotecnologia é um campo multidisciplinar que abrange áreas como engenharia, física, química e biologia e tem potencial para geração de produtos inovadores e diferenciados. A nanotecnologia direcionada para engenharia de tecidos tem como aplicação a obtenção de matrizes ou suportes denominados *scaffolds*. As nanofibras poliméricas são nanomateriais que, em função do polímero utilizado, apresentam estabilidade química e mecânica, grande área superficial em relação a volume, elasticidade e porosidade. Tais propriedades fazem com que as nanofibras possam ser utilizadas como matrizes em engenharia de tecidos. As nanofibras podem ser desenvolvidas a partir de polímeros biocompatíveis com células e tecidos e biodegradáveis, sendo seu uso destinado a produtos da medicina, biotecnologia e alimentos. A técnica mais utilizada para a produção de nanofibras é o *electrospinning*. Este trabalho tem como objetivo a obtenção de *scaffolds* de nanofibras a partir de policaprolactona (PCL), bem como integrar a biomassa da microalga *Spirulina* sp. LEB-18 como composto bioativo. Na técnica de *electrospinning* as soluções, contendo o polímero e o composto bioativo, são dispostas entre eletrodos, os quais são conectados a alta tensão e dessa forma, produzem fibras de diâmetro nanométrico. As soluções de 8 a 20% de PCL para o *electrospinning* serão preparadas com clorofórmio, adicionadas de 1% da biomassa de *Spirulina* sp. LEB-18. As soluções serão injetadas através do capilar com diâmetro entre 0,45 e 1,1 mm. Serão estudados potencial elétrico variando de 15,4 a 31,3 kV, vazão da solução de 0,7 e 5,8 $\mu L\ min^{-1}$, distância entre a extremidade do capilar e o coletor entre 100 e 200 mm. As características morfológicas das nanofibras poliméricas formadas contendo o composto bioativo serão acompanhadas em microscópio (Optika Microscope B-350). A partir das observações microscópicas espera-se a obtenção de fibras uniformes, sem gotas e com diâmetro em escala nanométrica. Como resultados preliminares obteve-se a formação de fibras na concentração de 15% de PCL com potencial elétrico de 25 kV, distância entre a extremidade e o capilar de 120 mm e vazão da solução de 3 $\mu L\ min^{-1}$. No entanto, as fibras formadas apresentaram-se quebradiças e com gotas, indicando que deve-se testar concentrações menores do polímero, já que a viscosidade da solução pode estar muito alta, fazendo com que a fibra seque no ar e não seja continuamente alongada. As nanofibras de PCL têm potencial para serem aplicadas como biomaterial em embalagens, recipientes e materiais descartáveis, com propriedades mecânicas similares às dos plásticos convencionais e com a adicional propriedade de serem biodegradáveis, biocompatíveis com células e tecidos e facilmente absorvidas pelo organismo humano. Além disso, os *scaffolds* contendo compostos bioativos têm potencial para uso farmacológico, auxiliando a cicatrização de tecidos lesionados.

Palavras-chave: compostos bioativos; *electrospinning*; engenharia de tecidos.

ISOLAMENTO DE LEVEDURAS A PARTIR DE RESÍDUOS OLEOSOS

Trevisol TC[1]; Oliveira KSD[1]; Paludo MP[1]; Burkert JFM[1]

[1]Universidade Federal do Rio Grande – FURG. Escola de Química e Alimentos – EQA, Laboratório de Análise Sensorial e Controle de Qualidade – LASCQ

Lipases pertencem ao grupo das hidrolases que catalisam a conversão de triglicerídeos a ácidos graxos livres e glicerol na interface óleo-água. Podem ser obtidas das seguintes fontes: animal, vegetal e de micro-organismos, com destaque para estes últimos. Muitos micro-organismos são conhecidos como potencial produtores de lipases extracelulares, incluindo bactérias, fungos e leveduras. As propriedades das lipases microbianas variam de acordo com a procedência, destacando-se pela sua estabilidade, seletividade e especificidade pelo substrato, o que favorece a sua aplicação em diversos processos biotecnológicos e industriais. O objetivo do trabalho foi isolar leveduras produtoras de lipase a partir de amostras de resíduos de uma indústria de óleo de soja e avaliar as atividades de hidrólise e esterificação. O isolamento foi realizado a partir de resíduos oleosos provenientes de uma indústria de óleo de soja de Rio Grande (RS). As amostras dos resíduos foram designadas como borra de limpeza dos tanques, condensado sem solvente, resíduo do fundo do tanque de óleo degomado, resíduo do óleo de limpeza exposto ao ambiente e farelo de soja. Os resíduos foram inoculados em água destilada estéril e mantidos a 25°C/24 h. Após, as amostras foram inoculadas em placas com ágar *Yeast Malt* (YM) e incubadas a 25°C/48 h, observando-se o crescimento das colônias. As cepas de leveduras produtoras de lipase foram selecionadas através da formação de um halo transparente ao redor das colônias, com diâmetro maior ou igual a 20 mm, quando cultivadas em placas contendo ágar Tributirina a 30ºC/48 h. As cepas de leveduras selecionadas foram inoculadas em meio líquido composto por 5% de peptona, 0,3% de extrato de levedura, 0,1% de sulfato de magnésio, 0,1% de nitrato de sódio e 1% de óleo de oliva, pH 6,0, 30°C por 48 h e 150 rpm, sendo determinada a atividade de hidrólise e esterificação em tempos pré-determinados. Dentre as 50 colônias de leveduras isoladas no ágar YM, 25 apresentaram halo de hidrólise superior a 20 mm de diâmetro no ágar Tributirina sendo selecionadas para produção da lipase. A máxima atividade hidrolítica foi de 2,87 ± 0,18 U mL^{-1} em 12 h de cultivo para a levedura isolada do resíduo de óleo de limpeza exposto ao ambiente. Enquanto que a maior atividade de esterificação foi para a levedura isolada do tanque de óleo degomado, alcançando 69,48 ± 3,55 U g^{-1}. Assim, o isolamento de micro-organismos lipolíticos a partir de resíduos oleosos industriais é uma promissora atividade na descoberta de novas enzimas mais estáveis e seletivas.

Palavras-chave: esterificação; hidrólise; isolamento; leveduras; lipases.

NANOTUBOS DE CARBONO FUNCIONALIZADOS COM POLIETILENOGLICOL: EFEITOS SOBRE DANO LIPÍDICO E PARÂMETROS DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL CONTRA RADICAIS PEROXIL NO HIPOCAMPO DE RATOS

Cordeiro A[1]; Dal Bosco L[2]; Weber G[2]; Parfitt G[2]; Barros D[2].

[1]Escola de Química e Alimentos
[2]Instituto de Ciências Biológicas

Os nanotubos de carbono (NT) são materiais promissores para aplicações biomédicas, especialmente no campo da neurociência. Como os NT são altamente hidrofóbicos, a funcionalização com polímeros hidrofílicos, como o polietilenoglicol (PEG), vem sendo utilizada para aumentar sua dispersabilidade em meio aquoso. Embora a funcionalização com PEG possa conferir maior biocompatibilidade aos NT, ainda não são bem conhecidas as ações dos NT funcionalizados no sistema nervoso de mamíferos. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi investigar o efeito dos NT de parede única funcionalizados com PEG (SWNT-PEG) sobre parâmetros de estresse oxidativo no hipocampo de ratos após 30 min e 24 h da infusão intrahipocampal das dispersões aquosas de SWNT-PEG, as quais foram caracterizadas quanto a morfologia, por microscopia eletrônica de transmissão, potencial zeta e distribuição do tamanho de partículas e diâmetro hidrodinâmico médio por espalhamento de luz dinâmico. Para o estudo da neurotoxicidade *in vivo*, ratos machos adultos foram submetidos à cirurgia estereotáxica para implante de cânulas nos hipocampos direito e esquerdo e posteriormente, a infusão intrahipocampal das dispersões de SWNT-PEG nas concentrações de 0,5; 1,0 e 2,1 mg/mL e da solução salina (grupo controle). O projeto foi previamente aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEUA-FURG, parecer P029/2011). Os animais foram mortos por decapitação 30 min e 24 h após a infusão dos tratamentos e os hipocampos foram dissecados e submetidos à quantificação da capacidade antioxidante total contra radicais peroxil (ACAP) e determinação da peroxidação lipídica (LPO). O n foi de 6 animais por grupo. Os resultados foram analisados por ANOVA de uma via e pós-teste de Newman-Keuls, sendo o valor de significância fixado em $p<0,05$. Os resultados deste trabalho evidenciaram o aumento da LPO no hipocampo dos animais 30 min após a infusão das dispersões nas concentrações de 0,5 e 1,0 mg/mL. Após 24 h, houve uma diminuição na ACAP nos animais infundidos com as dispersões de SWNT-PEG nas mesmas concentrações, embora não foi observada a ocorrência de LPO no hipocampo. A caracterização do nanomaterial quanto a distribuição do tamanho de partículas indicou que o diâmetro hidrodinâmico médio das partículas de SWNT-PEG em dispersão foi maior na concentração de 2,1 mg/mL quando comparada às dispersões de 0,5 e 1,0 mg/mL. Estes resultados demonstraram que o menor tamanho das partículas de SWNT-PEG em dispersão foi determinante para os efeitos biológicos do nanomaterial nos tempos experimentais estudados, de modo que o comportamento hidrodinâmico do nanomaterial em dispersão deve ser levado em consideração na investigação das ações biológicas dos mesmos. Por fim, o recrutamento das defesas antioxidantes pode indicar a ativação de mecanismos de proteção do tecido frente à exposição aos SWNT-PEG após 24 h.

Palavras chave: nanotubos de carbono; estresse oxidativo; neurotoxicidade

A ENGENHARIA BIOQUÍMICA NAS ESCOLAS DE ENSINO MÉDIO

Borges R K F; Souza M R A Z; Baranzelli J; DA SILVA, V B.

Universidade Federal do Rio Grande – FURG
Escola de Química e Alimentos

O curso de graduação de Engenharia Bioquímica é novo na Universidade Federal do Rio Grande, FURG, teve seu inicio em março de 2010 através do REUNI sendo reconhecido no ano de 2014 com o conceito máximo na avaliação pelo Ministério da Educação (5). Com a exata denominação "Engenharia Bioquímica" há apenas mais um curso no Brasil, em São Paulo. Há também outros 15 cursos com a denominação de Engenharia de Bioprocessos ou Biotecnologia já se distribuídos nacionalmente. Contudo, ainda é baixo o número de profissionais formados nesta área e o Engenheiro Bioquímico é comumente confundido com Biomédicos ou Farmacêuticos. Ao longo dos anos, nas disciplinas de séries iniciais do curso na FURG, foram detectadas dúvidas dos ingressantes sobre as disciplinas mais avançadas, o seu campo de atuação profissional, o salário e as atribuições profissionais. O ingresso de estudantes sem o suficiente esclarecimento destas dúvidas pode resultar no desinteresse pelo curso ao se deparar com disciplinas inesperadas, e, em última análise contribuem para sua evasão. Paralelamente a este cenário, a FINEP, através do Edital MCT/FINEP/CT-PETRO – PROMOPETRO 02/2009, financiou projetos para despertar o interesse dos estudantes para os cursos de Engenharia nas escolas de ensino médio. O curso de Engenharia Bioquímica da FURG participa de um desses projetos aprovados, trabalhando com o subprojeto no contexto Petróleo, Gás, Biocombustíveis e Petroquímica, realizando a divulgação do curso e de seus projetos de pesquisa nas escolas de ensino médio no município de Rio Grande/RS. A divulgação do projeto é realizada via e-mail para todas as escolas de abrangência da 18ª Coordenadoria Regional de Educação. Após realiza-se agendamento das oficinas, que abordam assuntos pertinentes a ciências exatas e naturais, como microalgas, biorremediação, biogás, plásticos biodegradáveis, a importância dos micro-organismos para os seres humanos, nanotecnologia, biopolímeros, entre outras que são ministradas por professores do curso e pós–graduandos do programa de pós-graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos. Previamente às oficinas, são aplicados questionários aos professores e alunos das escolas, com a finalidade de analisar o conhecimento e o interesse destes pelos cursos de Engenharia da FURG. Até o momento, 106 estudantes de ensino médio responderam aos questionários. A preferência pelos cursos de Engenharia da FURG foram 7,5% Engenharia Bioquímica, 21,5% Engenharia Civil, 3,7% Engenharia Civil Costeira e Portuária, 1,9%Engenharia Civil Empresarial, 10,3% Engenharia de Alimentos, 6,5% Engenharia de Automação, 15,9% Engenharia de Computação, 15,9% Engenharia Mecânica, 0,0% Engenharia Mecânica Empresarial, 5,6% Engenharia Mecânica Naval, 11,2% Química. A partir da análise dos questionários constatou-se que os estudantes desconheciam o que realmente é o curso de Engenharia Bioquímica. No intuito de mudar essa situação e esclarecer os estudantes sobre o curso, as atividades do projeto continuarão sendo executadas. A experiência obtida também permite destacar a importância da inserção de estudantes ingressantes no curso de Engenharia Bioquímica como bolsistas nas atividades do projeto junto às escolas de ensino médio, aumentando a interação destes com outros estudantes, com professores e com os cursos em geral.

Palavras-chave: divulgação de curso superior; ciências exatas; interesse pela Engenharia.

AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO E TEOR LIPÍDICO DA BIOMASSA DE CULTIVOS DE *Spirulina* COM APLICAÇÃO DE CAMPOS MAGNÉTICOS PARA PRODUÇÃO DE BIOCOMBUSTÍVEIS

Cardias, BB[1]; Deamici, KM[1]; Santos, LO[1]; Costa, JAV[1]

[1]Laboratório de Engenharia Bioquímica, Universidade Federal do Rio Grande

A produção de biocombustíveis e energias limpas tem sido apontada como um dos grandes desafios tecnológicos para viabilizar o desenvolvimento sustentável no século XXI. As microalgas são consideradas matéria-prima potencial para produção de biocombustíveis. Dependendo das espécies e condições de cultivo, elas podem produzir quantidades adequadas de polissacarídeos (carboidratos) e triacilglicerídeos (lipídios) que podem ser matérias-primas para a produção de biocombustíveis, como bioetanol e biodiesel. Estudos têm sido feitos a fim de aumentar a produção de biomassa de microalgas e o teor de carboidratos e lipídios contidos nesta. A aplicação de campos magnéticos (CM) têm efeito sobre o metabolismo dos micro-organismos, na eficiência fotossintética, na morfologia celular, além de possibilitar o acúmulo de lipídios na célula. Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito dos CM no cultivo da microalga *Spirulina* sp. LEB 18 e no conteúdo lipídico da biomassa obtida, a fim de utilizá-la na produção de biodiesel. Os cultivos foram realizados em fotobiorreator tubular vertical de 1,8 L, em meio Zarrouk, 30°C, iluminância de 41 μmol m^{-2} s^{-1}, fotoperíodo 12 h claro/escuro, por 15 dias. Foram realizados cultivos controles (sem aplicação de CM) e com aplicação de CM com intensidade média de 30 mT (com ímãs permanentes fixados nos fotobiorreatores). Diariamente foram realizadas determinações analíticas de pH e concentração celular. As respostas avaliadas foram velocidade específica máxima de crescimento, concentração celular máxima, tempo de geração e teor lipídico. A concentração celular máxima ($X_{máx}$) do cultivo com aplicação de CM foi cerca de 15% inferior ao cultivo controle que obteve valor de 1,98 ± 0,035 $g.L^{-1}$. As velocidades específicas máximas ($\mu_{máx}$) do cultivo com aplicação do CM e do cultivo controle não diferiram significativamente, a um nível de significância de 95%. Os tempos de geração (t_g), obtidos no cultivo controle e com aplicação de CM foram de 8,19 ± 1,311 d^{-1} e 8,95 ± 0,932 d^{-1}, respectivamente, sem diferença significativa entre as respostas. O teor lipídico aumentou cerca de 59% nos cultivos com CM comparado aos cultivos controle, obtendo-se 16,93 ± 2,01%. A intensidade do CM de 30 mT aplicada nos cultivos da microalga produziu um efeito inibitório no crescimento da mesma e o conteúdo de lipídios aumentou, não apresentando diferença estatística significativa na velocidade específica máxima de crescimento e no tempo de geração. Assim os CM podem ser aplicados nos cultivos de *Spirulina* a fim de incrementar o conteúdo lipídico da biomassa, podendo aplicá-la na produção de biodiesel.

Palavras-chave: biocombustíveis; campos magnéticos; microalgas.

CULTIVO DE *Synechococcus nidulans* COM DIODOS EMISSORES DE LUZ VARIANDO CONCENTRAÇÕES DE INÓCULO

Rasia[1] TA; Prates[1] DF; Barcia[1] MT; Radmann[1] EM; Costa[1] JAV

[1] Laboratório de engenharia bioquímica – Universidade Federal do Rio Grande

As microalgas são capazes de transformar a energia solar em compostos orgânicos durante o metabolismo fotossintético. *Synechococcus* é uma espécie de microalga pertencente ao gênero das cianobactérias amplamente distribuídas no ambiente. O uso de diodos emissores de luz (LEDs) para iluminação em condições controladas de cultivo tem crescente aplicação, especialmente por consumir menos energia comparada às lâmpadas fluorescentes e incandescentes comumente empregadas. A concentração celular inicial ou inóculo é o *starter* para que se iniciem os processos biotecnológicos. Essas concentrações exercem influencia importante nos cultivos, necessitando de mais estudos. Diante disso, o objetivo do trabalho foi avaliar a produção de biomassa microalgal utilizando LEDs de cor branca a partir do cultivo com diferentes concentrações iniciais de inóculo. A microalga *Synechococcus nidulans* foi cultivada assepticamente por 10 d, em fotoperíodo de 12 h claro/12 h escuro, sendo que no período claro a iluminação foi fornecida por LEDs de cor branca, com intensidade luminosa de 2000 lux. Os fotobiorreatores utilizados foram do tipo erlenmeyers de 500 mL com volume útil de 400 mL, esses foram equipados em seu meio com um tubo de ensaio. Os LEDs foram colocados no interior do tubo de ensaio. Os fotobiorreatores foram envolvidos com folhas de alumínio para reduzir a perda de irradiação de luz e para evitar a penetração de outros comprimentos de onda. Os fotobiorreatores foram mantidos em *Shaker* sob agitação de 100 rpm e a 30 ºC. Os ensaios foram realizados variando as concentrações iniciais de inóculo microalgal, sendo estas de 0,15, 0,2 e 0,25 $g.L^{-1}$ de *Synechococcus nidulans* no meio Zarrouk. O crescimento microalgal foi monitorado diariamente por espectrofotometria a 670 nm, através de curva padrão previamente construída relacionando massa seca e densidade óptica. O pH dos cultivos também foi monitorado diariamente. Ao término dos ensaios a biomassa foi centrifugada e liofilizada para análises posteriores. O maior resultado de concentração celular máxima (0,42±0,05 $g.L^{-1}$) foi alcançada no ensaio que iniciou com 0,20 $g.L^{-1}$ de *Synecochoccus nidulans,* este ensaio obteve a maior produtividade. Nesse ensaio a velocidade específica máxima de crescimento mostrou-se de 0,0173 d^{-1}. O processo biotecnológico que empregue menor concentração celular de inóculo sem afetar o rendimento de biomassa ou produto desejado, deve ser preferencialmente empregado em cultivos, pois representa economia do processo.

Palavras-chave: cianobactéria; LEDs; inóculo; *Synechococcus*

Agradecimentos: A CAPES pelo apoio financeiro.

CULTIVO E BIOFIXAÇÃO DE CO_2 POR *Spirulina* sp. LEB 18 COM MONOETANOLAMINA E RECICLO DE NUTRIENTES

Rosa GM[1]; Moraes L[1]; Cardias BB[1]; Souza MRAZ[1]; Costa JAV[1]

[1]Laboratório de Engenharia Bioquímica - Universidade Federal do Rio Grande

O dióxido de carbono (CO_2) é o principal gás de efeito estufa (GEE) de ação antrópica. Uma das maneiras de conter o aumento deste GEE é a absorção química por soluções de alcaloaminas. A monoetanolamina (MEA, C_2H_7NO) é um reagente muito empregado para mitigação de CO_2 presente em gases de combustão. No entanto, a fixação química de CO_2 consome elevada energia para regenerar o absorvente e separar o CO_2. Embora a taxa de remoção de CO_2 em sistemas biológicos seja menor que em sistemas químicos, a biofixação de dióxido de carbono por microalgas é uma tecnologia muito estudada, pois converte CO_2 em biomassa por processo fotossintético. Quando o cultivo de microalgas é realizado por poucos dias, muitos nutrientes não são reaproveitados após a recuperação da biomassa. Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo investigar o crescimento e a biofixação de CO_2 pela cianobactéria *Spirulina* sp. LEB 18 em cultivos semicontínuo com adição de MEA e reciclo de nutrientes. Para isso, foram conduzidos duplicatas de cultivos em modo semicontínuo, diariamente alimentados com CO_2 (0,36 mL_{CO2} mL_{meio}^{-1} d^{-1}) e a cada ciclo de crescimento com 0,20 $mmol.L^{-1}$ de MEA. Os ensaios foram realizados com concentração celular inicial de 0,20 $g.L^{-1}$, em fotobiorreatores tubulares de 2,0 L (volume útil de 1,8 L), mantidos a 30°C, fotoperíodo de 12 h claro/12 h escuro, iluminância de 3,2 klx, com tempo de duração de 25 d. A concentração celular de corte foi 0,5 $g.L^{-1}$ e a fração volumétrica de reciclo de meio 0,5. Para efeito de comparação foi conduzida, nas mesmas condições experimentais, duplicata de ensaios sem adição de MEA (ensaio controle). Foram avaliados o tempo de geração (t_g, d), a produtividade de biomassa (P_X) e a taxa biofixação de CO_2 (TB) por $TB = P_X*x_{cbm}*MM_{CO2}/MM_C$, onde xcbm foi a fração mássica elementar de carbono na biomassa, MM_{CO2} e MM_C representaram a massa molecular de CO_2 e de carbono, respectivamente. As biomassas produzidas foram recuperadas por centrifugação (15200g, 15 min, 20°C), secas por liofilização e caracterizadas pelo método a frio de Folch quanto à concentração de lipídios. Os ensaios com adição de MEA proporcionaram os melhores resultados de tempo de geração (2,14 d), produtividade máxima de biomassa (62,1 $mg.L^{-1}.d^{-1}$) e máxima taxa de biofixação de CO_2 (104,0 $mg.L^{-1}.d^{-1}$). A concentração de lipídios não diferiu estatisticamente ($p>0,05$) entre o ensaio com MEA (10,0 ± 1,2 % $m.m^{-1}$) e o ensaio controle (8,3 ± 1,4 % $m.m^{-1}$). Frente ao apresentado, foi comprovado que *Spirulina* pode ser cultivada com reciclo de nutrientes e adição de MEA com melhores resultados de crescimento em comparação ao cultivo controle. Além disso, a biomassa produzida no processo não tem alterada a concentração das macromoléculas mais energética presente em sua biomassa. Desta forma, seria possível promover a redução das emissões de CO_2 e obter maiores concentrações de biomassa sem perda na concentração de lipídios.

Palavras-chave: Lipídios, MEA, Microalga, Reaproveitamento de nutrientes, semicontínuo.

APLICAÇÃO DE MEMBRANAS DE FIBRA OCA NO CULTIVO DE *Spirulina*

Moraes L[1]; Rosa GM[1]; Cardias BB[1]; Santos LO[1]; Costa JAV[1]

[1]Laboratório de Engenharia Bioquímica - Universidade Federal do Rio Grande

Devido ao aumento do nível de dióxido de carbono (CO_2) atmosférico, que é diretamente ligado às mudanças climáticas, gera-se a necessidade de desenvolvimento de métodos eficazes para a captura, armazenamento e sequestro de CO_2. Diante disso, estudos indicam que a biofixação de CO_2 por microalgas é a tecnologia promissora para capturar e armazenar carbono. A alimentação de CO_2 ao cultivo de microalgas em biorreatores abertos ou fechados é realizada por sistemas convencionais de forma dispersiva como difusores porosos e perfurados, que estão associados aos inconvenientes como perdas do gás por exaustão para a atmosfera e baixas eficiências de transferência de massa. A utilização de membranas de fibra oca, em sistema dispersivo, pode atuar no sistema como aspersor para injeção de CO_2, gerando microbolhas, as quais facilitariam a transferência deste gás para o meio líquido. A aplicação deste sistema pode contribuir com a redução das perdas do CO_2 para atmosfera e para o aumento das taxas de fixação de CO_2 e produtividade de biomassa. O presente trabalho teve por objetivo desenvolver um sistema composto por membranas de fibra oca (MFO) para alimentação de CO_2 no cultivo de *Spirulina* sp. LEB 18 e avaliar seu desempenho por meio da cinética de crescimento. Para isso, a microalga foi cultivada em fotobiorreatores tubulares verticais de 2 L, com volume útil de 1,7 L, mantidos a 30°C, fotoperíodo 12 h claro/12 h escuro, iluminância de 41,6 $\mu mol_{fótons}.m^{-2}.s^{-1}$, durante 15 d. No período claro, a injeção de ar comprimido foi interrompida para que ocorresse a alimentação dos cultivos com CO_2 por borbulhamento através das membranas de fibra oca. O CO_2 foi alimentado aos cultivos na forma de pulsos (0,15 $mL_{CO2}.mL_{meio}^{-1}.d^{-1}$) (1 min, a cada 2 h, durante o período claro), a uma vazão específica de 0,025 vvm controlada por medidores de vazão e pressão de 3 bar. A agitação dos cultivos por borbulhamento de ar foi promovida pela injeção de ar comprimido por difusor do tipo pedra sinterizada nas vazões específicas de 0,05 e 0,3 vvm. Ensaios controle (CT) foram realizados com a pedra sinterizada como difusor para posterior comparação com os ensaios com membranas. Com este estudo foi possível desenvolver e aplicar o sistema de MFO para alimentação de CO_2 no cultivo de *Spirulina*. O ensaio com borbulhamento de ar na vazão de 0,05 vvm e sistema de MFO apresentou os maiores resultados de concentração celular (1,98 ± 0,02 $g.L^{-1}$) e produtividade volumétrica de biomassa (131,8 ± 1,9 $mg.L^{-1}.d^{-1}$), quando comparado ao ensaio controle na mesma vazão de ar. Na vazão de ar de 0,3 vvm a máxima concentração celular (2,00 ± 0,02 $g.L^{-1}$) foi obtida no ensaio com o sistema de MFO. Os resultados alcançados demonstraram o potencial de aplicação das MFO para alimentação do CO_2 no cultivo de *Spirulina*, contribuindo assim para redução das emissões de CO_2 para atmosfera e também de custos com a fonte de carbono e condução do processo para a produção de biomassa microalgal.

Palavras-chave: biomassa; crescimento; difusores; dióxido de carbono; microalga.

PRODUÇÃO DE CAROTENOIDES POR *Sporidiobolus pararoseus* NA PRESENÇA E AUSÊNCIA DE INCIDÊNCIA LUMINOSA

Sá, C[1].; Tavares, M[1].; Santana, J[1].; Borba, C[1].; Moraes, C[2].; Burkert, J[1].

[1]Laboratório de Análise Sensorial e Controle de Qualidade – FURG
[2]Laboratório de Microbiologia e Toxicologia de Alimentos – UNIPAMPA

Do ponto de vista químico, os carotenoides possuem estrutura básica formada por unidades de isopreno ligadas covalentemente, criando uma molécula simétrica com 40 carbonos. Sua cadeia altamente insaturada juntamente com fatores como calor, acidez e luz podem promover a isomeração de carotenoides trans (forma usual) para conformação cis. Esses fatores podem ainda, dependendo da concentração de oxigênio presente no meio, estimular a degradação oxidativa, sendo que tanto o processo de isomeração quanto a oxidação levam a perda de cor e também atividade provitamina A. Em vista disso o presente trabalho teve como objetivo o estudo da influência da incidência luminosa durante a produção de carotenoides por *S. pararoseus*. O inóculo foi preparado em Erlenmeyers de 250 mL contendo 90 mL YM adicionado de 0,2 g/L de KNO_3. Os cultivos submersos foram realizados em meio, composto por melaço de cana de açúcar (40 g/L) e água de maceração de milho (6,5 g/L), pré-tratado com ácido sulfúrico, incubado a 25ºC, 180 rpm, durante 120 h . Para acompanhamento do processo foram retiradas amostras a cada 24 h de produção para acompanhamento de biomassa, pH e carotenoides. A concentração de biomassa ao longo do processo foi estimada por leitura de absorbância a 620 nm, através de uma curva padrão de biomassa. O pH foi determinado através da leitura da amostra em potenciômetro e o processo de ruptura foi realizado por DMSO, a extração e quantificação dos carotenoides foi realizada por espectrofotometria, sendo expressos pela produção específica (µg/g). As análises foram realizadas em duplicatas e avaliadas através de Teste t com confiança de 95%,. A produção máxima de carotenoides específicos foi de 1176,55 µg/g e 1198,16 µg/g, respectivamente, para presença e ausência de luz, ambas obtidas em 72 h de produção. A análise dos dados demostrou não haver diferença estatística ($p>0,05$) entre as duas médias. O pH sofreu maior variação nas primeiras 48 h nas duas condições, sendo que nos pontos de máxima produção os valores foram de 5,16 (com incidência de luminosidade) e 4,68. A produção de biomassa no tempo de 72 h foi de 1,96 g/L e 2,03 g/L para presença e ausência de incidência luminosa respectivamente. No presente trabalho não foi observada a interferência da incidência de luminosidade natural sobre a produção de carotenoides. Se fazendo necessário um estudo mais aprofundado da utilização de outros tipos de iluminação e sua inflûencia sobre o perfil de carotenoides desejados, visto que a estrutura química desses corantes podem ser afetadas pela irradiação, permitindo assim seja possível determinar condições de produção utilizando *S. pararoseus,* que levem a maiores produções de carotenoides, sem perdas em sua coloração e atividade provitamina A.

Palavras-chave: corantes, levedura, luz

PRODUÇÃO DE BIOGÁS A PARTIR DA CO-DIGESTÃO DE MICROALGA E GLICEROL

Costa AM[1]; Schmatz DA[2]; Goularte PG[3]; Souza MRAZ[4]; Costa JAV[5]

[1, 2, 3, 4, 5]Laboratório de Engenharia Bioquímica (LEB), Universidade Federal do Rio Grande (FURG)

A intensiva busca por fontes alternativas de energia e processos sustentáveis visando à redução da poluição ambiental e o aquecimento global do planeta tem estimulado o mercado mundial de combustíveis limpos. A geração de biogás pode ser considerada uma atraente alternativa em busca de novas fontes energéticas, além disso, comparado a outros biocombustíveis, o biogás apresenta a vantagem de poder ser produzido através do processamento biológico de toda a fração orgânica da biomassa microalgal. Na digestão anaeróbia de biomassa de microalgas a adição de um co-substrato rico em carbono, pode facilitar o processo de produção de biogás. O glicerol possui uma alta concentração de carbono orgânico e é solúvel em água. Neste sentido, a combinação de ambos os substratos pode solucionar um dos principais problemas para o processo de co-digestão que reside no equilíbrio da razão (C/N). O objetivo deste trabalho foi produzir biogás através da co-digestão anaeróbia utilizando como substratos biomassa de *Spirulina* sp. LEB18 e glicerol bruto. Quatro biorreatores de 2 L, foram alimentados com diferentes concentrações e mantidos a 35 ºC em estufa termostatizada. Um biorreator foi alimentado somente com *Spirulina* (10 $g.L^{-1}$) e os demais com 1,0; 5,0 ou 10,0 $g.L^{-1}$ de *Spirulina* e 5 $g.L^{-1}$ de glicerol. Os biorreatores foram equipados com sistema de coleta de gás, alimentação e retirada do efluente líquido, e operados em batelada sequencial. O efluente líquido dos reatores foi analisado quanto ao pH, nitrogênio amoniacal e alcalinidade. O volume de biogás produzido diariamente foi medido em gasômetro de frasco invertido. Em todos os ensaios, os valores médios de pH e nitrogênio amoniacal estiveram dentro de faixas seguras para o processo de digestão anaeróbia, com pH variando de 6,9 a 7,2 e nitrogênio amoniacal de 165,2 a 1187,3 $mg.L^{-1}$. A alcalinidade do efluente variou entre 2027,8 e 3208,4 $mg.L^{-1}$ $CaCO_3$. Nos ensaios com adição de glicerol houve incremento na produção de biogás (0,20 – 0,26 $L.d^{-1}$) quando comparado ao ensaio em que somente a biomassa microalgal era alimentada no processo (0,05 $L.d^{-1}$). Diante dos problemas ambientais e a falta de um destino adequado para o glicerol, é possível a sua utilização como um complemento à biomassa microalgal para a produção de biogás, representando uma alternativa viável para a utilização destes dois substratos com concomitante agregação de valor a uma matéria-prima residual da produção de biodiesel.

Palavras-chave: digestão anaeróbia; efluente; glicerol bruto; *Spirulina*.

Agradecimento: CAPES

CARACTERIZAÇÃO DE EXTRATO COMERCIAL DE ENDO-β-1,4-XILANASE DE *Aspergillus oryzae*

Silveira JT[1]; Guido ES[1]; Kalil SJ[1]

[1]Laboratório de Microbiologia e Biosseparações, Universidade Federal do Rio Grande.

As endo-xilanases são glicosidases responsáveis pela hidrólise das ligações β-1,4 presentes na xilana, um polímero constituído principalmente por xilose, e são utilizadas industrialmente no branqueamento de polpas de celulose e papel, na bioconversão de materiais lignocelulósicos em produtos fermentescíveis e na produção de xilo-oligossacarídeos (XOS) prebióticos. Para obtenção de XOS por via enzimática são desejados extratos xilanolíticos com alta atividade de endo-β-1,4-xilanase e baixa de exo-xilanase e/ou β-xilosidase, a fim de impedir a formação de xilose que apresenta efeitos de inibição sobre a produção destes compostos. Sendo assim, para aplicação mencionada é de fundamental importância caracterizar a enzima de interesse quanto ao pH e temperatura ótimos de atividade, e avaliar a presença de outras enzimas xilanolíticas no extrato enzimático. Com base no exposto, o presente trabalho teve como objetivo principal caracterizar o extrato comercial de endo-xilanase proveniente de *Aspergillus oryzae* visando o seu uso posterior na produção de XOS. Para tal, inicialmente foram determinadas as atividades de endo-β-1,4-xilanase, β-xilosidase, β-glicosidase e α-L-arabinofuranosidase. Posteriormente, determinou-se o pH ótimo da enzima endo-xilanase a 50°C, na faixa de pH variando de 3,5 a 7,0 (pH 3,5-5,5, tampão citrato de sódio 50 mM e pH 6,0-7,0, tampão fosfato de sódio 50 mM), utilizando xilana de madeira de faia como substrato. O efeito da temperatura sobre a atividade de endo-xilanase foi verificado incubando-se a enzima em diferentes temperaturas (35 a 90°C), mantendo o pH fixo em 5,3 e o mesmo substrato. Com base nos resultados, constatou-se que o extrato enzimático possui alta atividade de endo-β-1,4-xilanase (4.392,4±59,0 $U.mL^{-1}$) e baixa atividade de β-xilosidase (24,1±1,3 $U.mL^{-1}$), o que é bastante desejável na produção de XOS. As atividades de β-glicosidase e α-L-arabinofuranosidase foram de 0,6±0,0 e 2,0±0,1 $U.mL^{-1}$, respectivamente, evidenciando que o extrato comercial é purificado. A enzima endo-xilanase apresentou atividades superiores a 1.000 $U.mL^{-1}$ em toda a faixa de pH avaliada, sendo que os maiores valores foram obtidos entre 5,0 e 5,5. Além disso, verificou-se atividades promissoras em uma ampla faixa de temperatura (50 a 80°C), sugerindo que esta enzima é termoestável e, portanto, pode ser aplicada em processos biotecnológicos onde são empregadas temperaturas mais elevadas, como por exemplo no branqueamento do papel. Convém ressaltar que estudos da literatura relatam, na sua maioria, que as condições ideais de reação para obtenção de XOS por hidrólise enzimática de xilanas são: pH 5,0 a 5,5 e temperatura entre 40 e 50°C. De acordo com os resultados alcançados, conclui-se que o extrato comercial de endo-xilanase oriundo de *A. oryzae* pode ser utilizado na produção de XOS, no entanto, são necessários estudos adicionais relacionados a estabilidade da enzima frente ao pH e a temperatura.

Palavras-chave: endo-xilanase comercial; enzimas xilanolíticas; pH ótimo; temperatura ótima

Agradecimentos: CAPES, FAPERGS e CNPq

PRODUÇÃO DE BIOGÁS EM ESCALA PILOTO A PARTIR DE BIOMASSA MICROALGAL

Meza LHR[1]; Henrard AA[1]; Rosa GM[1]; Borges JA[1]; Souza MRAZ[1]; Costa JAV[1].

[1] Laboratório de Engenharia Bioquímica, Universidade Federal do Rio Grande – FURG

As microalgas estão ganhando o interesse no cenário de energia e meio ambiente por apresentarem amplo potencial de aproveitamento, quer crescendo e fixando CO_2, contribuindo para a redução da emissão de gases, quer como fonte de biocombustíveis como biodiesel, bioetanol e biogás. Microalgas, por meio do metabolismo fotossintético, utilizam energia solar e gás carbônico como nutrientes para o crescimento. A ausência de parede celulósica e a alta concentração de matéria orgânica (93%) tornam a microalga *Spirulina* um promissor substrato para produção de biometano por digestão anaeróbia. O objetivo deste trabalho foi estudar a bioconversão de *Spirulina* sp. LEB 18 em CH_4 sob condições ambientais não controladas. O ensaio foi realizado em biorreator anaeróbio com volume útil de 280 L sob temperaturas não controladas. O biorreator foi operado em batelada sequencial com ciclos diários de alimentação (7,0 $g.L^{-1}$ de *Spirulina* sp. LEB 18), reação (6 h), decantação (18 h) e esvaziamento de 10% do volume. O volume de gás produzido foi medido através de fluxômetro acoplado ao biorreator. Alcalinidade (2027,90 ± 255,93 $mg.L^{-1}$ $CaCO_3$), pH (6,90 ± 0,10) e nitrogênio amoniacal (607,41 ± 136,46 $mg.L^{-1}$) permaneceram em faixas adequadas ao processo anaeróbio durante todo o ensaio. O volume de gás produzido em relação ao volume de meio foi 0,21 ± 0,05 d^{-1}. O biogás gerado apresentou 71,8% de CH_4, 27,9% de CO_2, 0,07% de H_2S e 0,23% de H_2. A decomposição da biomassa foi 72,4 ± 2,2% e a conversão da fração orgânica da biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 em biogás foi 0,24 ± 0,05 $g.g^{-1}$. Os resultados obtidos no presente trabalho intensificam o potencial de utilização da microalga *Spirulina* como fonte de biomassa para produção de biogás em escala piloto sob condições ambientais, demonstrando ser uma alternativa para utilização da biomassa gerada através da biofixação de gases de combustão proveniente de usina termelétrica.

Palavras-Chave: Biomassa; Biometano; Cianobactéria; Digestão anaeróbia.

Agradecimentos: Os autores agradecem à FAPERGS – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul e à CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – pelo apoio financeiro para a realização deste trabalho.

MONITORAMENTO DO POTENCIAL HIDROGENIÔNICO DE *Pediastrum boryanum* CULTVADO EM DIFERENTES MEIOS

Salgado[1] HZ; Silva[1] MGC; Fonseca[1] AF; Prates[2] DF; Dora[1] CL; Radmann[2] EM; Costa[2] JAV; Muccillo-Baisch[1] AL

[1] Instituto de Ciências Biológicas – Universidade Federal do Rio Grande
[2] Laboratório de Engenharia Bioquímica – Universidade Federal do Rio Grande

O cultivo de microalgas é um processo biotecnológico atualmente vantajoso, em vista da sua biomassa, a qual pode ser empregada em diversas áreas. *Pediastrum boryanum* é uma *Chlorophyceae* de ampla distribuição ambiental. No entanto há muitas lacunas a cerca de seu cultivo que merecem ser preenchidas. O emprego de um meio de cultivo adequado às condições fisiológicas e de produção de uma dada espécie microalgal pode refletir no aumento da produtividade de biomassa. Os fatores físico-químicos, os quais a microalga é exposta são igualmente importantes, pois interferem no comportamento microalgal influenciando a composição da biomassa e sua produtividade. O pH é um dos parâmetros que influencia os cultivos, tem relação com a ativação de enzimas, determina a solubilidade do CO_2 e alguns minerais no meio, influencia o metabolismo microalgal. O objetivo do trabalho foi avaliar o pH durante o cultivo de *P. boryanum* em diferentes meios. Os cultivos foram conduzidos com *P. boryanum* em uma concentração inicial de 0,2 $g.L^{-1}$ até a fase estacionária de crescimento. Utilizou-se fotobiorreatores tipo Erlenmeyer de 2 L com volume útil de 1,8 L, fotoperíodo de 12 h claro (2500 lux)/12 h escuro, mantidos a 30°C, agitados por injeção de ar estéril a uma vazão de 0,5 vvm. Foram utilizados os meios de cultivo BG-11 modificado (com adição de 0,4 $g.L^{-1}$ de $NaHCO_3$), WC modificado (suplementado com 0,0435 $g.L^{-1}$ de K_2HPO_4 e 0,142 $g.L^{-1}$ de $NaNO_3$) e Basal. O crescimento microalgal foi monitorado diariamente por espectrofotometria a 670 nm, através de curva padrão previamente construída relacionando massa seca e densidade óptica. O pH dos cultivos também foi monitorado diariamente. Ao final dos ensaios centrifugou-se e liofilizou-se a biomassa para análises posteriores. O ensaio em que foi utilizado o meio de cultivo BG-11 modificado apresentou maior concentração de biomassa microalgal (2,78 $g.L^{-1}$) e produtividade (0,610 $g.L^{-1}.d^{-1}$), quando comparado aos demais meios testados. Esse chegou à fase estacionária em um período de 29 d. O cultivo em meio WC atingiu a fase estacionária em 16 d, a concentração e produtividade foram respectivamente de 0,6 $g.L^{-1}$ e 0,14 $g.L^{-1}.d^{-1}$ e a faixa de pH nesse meio foi de 8,60 – 10,04. Já no meio Basal o experimento encerrou em 16 d e obteve os menores resultados de concentração, produtividade e pH (6,54 - 6,64). O efeito do parâmetro pH em cultivos é complexo, pois é difícil dissociar os efeitos diretos do crescimento microalgal, dos efeitos colaterais expressos em termos de modificação no sistema. Contudo, a partir desse estudo observou-se que entre os meios de cultivo testados os que geraram as maiores concentrações de biomassa e produtividades mantiveram-se em uma faixa mais alcalina de pH. O alto valor de pH nesses cultivos alinha-se a produção de biomassa, inferindo que uma faixa alcalina seria mais adequada para o crescimento de *P. boryanum*.

Palavras-chave: pH; biomassa; microalgas; meios de cultivo; *Pediastrum boryanum*

Agradecimentos: A CAPES pelo apoio financeiro.

EFEITO DA VARIAÇÃO DA INTENSIDADE LUMINOSA NO CRESCIMENTO DE *Chlorella minutissima*, UTILIZANDO PENTOSES COMO FONTE DE CARBONO

Bracher, EH[1]; Freitas, BC[1]; Porciúncula, GA[1]; Costa, JAV[1]
Laboratório de Engenharia Bioquímica[1], Universidade Federal do Rio Grande - FURG.

A utilização de fontes alternativas para produção de biomassa microalgal vem sendo muito estudada, como melaço, resíduos da indústria de laticíniose sucroalcooleira, CO_2 oriundo de gases de combustão, entre outros. A biomassa microalgal tem uma ampla aplicação, podendo ser utilizada para produção de biocombustíveisl, biocorantes, alimentação humana e animal, fertilizantes, entre outras. O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da intensidade luminosa e adição de pentoses quanto aos parâmetros do crescimento microalgal. Foi utilizada a cepa de *Chlorella minutissima* pertencente à Coleção do Laboratório de Engenharia Bioquímica da Universidade Federal do Rio Grande (FURG). Foi utilizado para o cultivo Meio Bristol's modificado, com redução do componente nitrogenado em 50% e adição de pentoses (xilose e arabinose). Os cultivos foram realizados em fotobiorreatores tipo tubular com 2L de volume útil e mantidos em estufa termostatizada em 30º C com fotoperíodo 12h claro/escuro e variação da iluminância dos cultivos de 40,50; 20,25 e 10, 13 $\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$. O crescimento da biomassa foi monitorado diariamente pela densidade ótica das culturas em espectrofotômetro a 670nm, através de uma curva padrão previamente realizada, relacionando massa seca e densidade ótica, o mesmo procedimento foi realizado para a determinação da concentração inicial de biomassa. Os resultados avaliados foram concentração máxima de biomassa ($X_{máx}$, $g.L^{-1}$), produtividade máxima de biomassa ($P_{máx}$, $g.L^{-1}.d^{-1}$), velocidade especifica máxima de crescimento ($\mu_{máx}$, d^{-1}) e tempo de geração (t_g, d). Os melhores resultados foram obtidos nos cultivos submetidos a utilização de maiores intensidades luminosas (40,50 $\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$), sendo a concentração máxima de 1,108 $g.L^{-1}$ e produtividade máxima de 0,170 $g.L^{-1}.d^{-1}$ resultados obtidos quando adicionado somente xilose ao meio de cultivo.Para a velocidade específica máxima de crescimento o melhor resultado foi 0,383 d^{-1} e tempo de geração de 1,812 d, foram obtidos os melhores resultados quando adicionado somente arabinose. Estes resultados comprovam que fontes luminosas mais intensas geram um crescimento celular maior e podem influenciar a quantidade de carbono fixado. Portanto o uso de maiores intensidades luminosas gera resultados satisfatórios para parâmetros cinéticos.

Palavras-chave: arabinose; microalgas; xilose.