

Resumo da dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos da UFRJ como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Mestre em Ciências

Produção de xilanase de *Thermomyces lanuginosus* por *Pichia pastoris* recombinante em batelada alimentada

Autora: Verônica Ferreira

Orientadores: Nei Pereira Jr., *PhD* e Mônica Caraméz Triches Damaso, *DSc*

Ano: 2005

Endoxilanases são enzimas hemicelulolíticas que hidrolisam as cadeias de xilana, de forma randômica, promovendo liberação de vários xiloligossacarídeos e xilose. Estas enzimas possuem grande aplicabilidade biotecnológica, com especial destaque para o setor de polpa e papel. O presente trabalho objetivou o estudo de várias estratégias de produção de xilanase de *Thermomyces lanuginosus* IOC-4145 por *Pichia pastoris* GS115. Inicialmente, investigou-se a capacidade de reutilização de células em experimentos conduzidos em frascos agitados, tendo como variáveis: concentrações celulares iniciais de 0,25 g.L⁻¹ e 2,5 g.L⁻¹; e intervalos de tempo de reutilização de células de 24h, 48h e 72h. Experimentos com concentração de 2,5 g.L⁻¹ conduziram a uma maior estabilidade celular, suportando até quatro bateladas repetidas com intervalos de 24 horas, enquanto o bioprocessamento com concentração celular inicial de 0,25 g.L⁻¹ apresentou perda de 75% na produção xilanásica ao final do terceiro cultivo. Dentre os intervalos analisados, o de 24 horas com concentração celular inicial de 2,5 g.L⁻¹ mostrou-se mais conveniente para a produção de xilanase envolvendo reuso de biomassa. Adicionalmente, estudou-se a produção de xilanase recombinante em biorreator conduzido em batelada alimentada através da alimentação de metanol por pulsos e contínua. A levedura metilotrófica utilizada na expressão de xilanase apresentou grande sensibilidade ao indutor, metanol, durante a expressão protéica. Em cultivos nos quais as concentrações residuais de metanol foram mantidas entre 0,5 e 1,5 g.L⁻¹ alcançou-se as maiores atividades xilanásicas e os maiores rendimentos de produto em relação à biomassa. No cultivo conduzido em batelada alimentada por pulsos em intervalos de tempo variável, obteve-se um total de 560.000 Unidades de atividade enzimática (U) e um fator de rendimento de produto em relação a biomassa ($Y_{p/x}$) de 25.594 U.g⁻¹ em 136 horas de indução. Cultivos sob regime de batelada continuamente alimentada conduziram a um total de atividade enzimática de 320.000 U e $Y_{p/x} = 47.512$ U.g⁻¹ em 100 horas de indução. Por fim, o cultivo no qual a produção do inóculo se deu *in situ* e, a expressão foi iniciada com alta densidade celular, obtendo-se ao final de 37 horas de indução 103.000 U e $Y_{p/x} = 22.368$ U.g⁻¹.