

José Max Barbosa de Oliveira Junior
(Organizador)

Análise Crítica **das Ciências** **Biológicas e** **da Natureza 3**

Atena
Editora
Ano 2019

José Max Barbosa de Oliveira Junior
(Organizador)

Análise Crítica das Ciências Biológicas e da Natureza 3

Atena Editora
2019

2019 by Atena Editora
Copyright © Atena Editora
Copyright do Texto © 2019 Os Autores
Copyright da Edição © 2019 Atena Editora
Editora Executiva: Prof^a Dr^a Antonella Carvalho de Oliveira
Diagramação: Natália Sandrini
Edição de Arte: Lorena Prestes
Revisão: Os Autores

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores. Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Conselho Editorial

Ciências Humanas e Sociais Aplicadas

Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof^a Dr^a Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Prof^a Dr^a Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionale delle Figlie de Maria Ausiliatrice
Prof^a Dr^a Juliane Sant’Ana Bento – Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Prof^a Dr^a Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Prof^a Dr^a Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof^a Dr^a Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof^a Dr^a Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Ciências Agrárias e Multidisciplinar

Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano
Prof^a Dr^a Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Darllan Collins da Cunha e Silva – Universidade Estadual Paulista
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Prof^a Dr^a Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

Ciências Biológicas e da Saúde

Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás
Prof.^a Dr.^a Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof.^a Dr.^a Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof.^a Dr.^a Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof.^a Dr.^a Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof.^a Dr.^a Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

Ciências Exatas e da Terra e Engenharias

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará
Prof.^a Dr.^a Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

Conselho Técnico Científico

Prof. Msc. Abrãao Carvalho Nogueira – Universidade Federal do Espírito Santo
Prof.^a Dr.^a Andreza Lopes – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Acadêmico
Prof. Msc. Carlos Antônio dos Santos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof.^a Msc. Jaqueline Oliveira Rezende – Universidade Federal de Uberlândia
Prof. Msc. Leonardo Tullio – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof. Dr. Welleson Feitosa Gazel – Universidade Paulista
Prof. Msc. André Flávio Gonçalves Silva – Universidade Federal do Maranhão
Prof.^a Msc. Renata Luciane Polsaque Young Blood – UniSecal
Prof. Msc. Daniel da Silva Miranda – Universidade Federal do Pará

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)	
A532	Análise crítica das ciências biológicas e da natureza 3 [recurso eletrônico] / Organizador José Max Barbosa de Oliveira Junior. – Ponta Grossa, PR: Atena Editora, 2019. – (Análise Crítica das Ciências Biológicas e da Natureza; v. 3) Formato: PDF Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader. Modo de acesso: World Wide Web. Inclui bibliografia ISBN 978-85-7247-359-0 DOI 10.22533/at.ed.590192705 1. Ciências biológicas – Pesquisa – Brasil. I. Oliveira Junior, José Max Barbosa de. II. Série. CDD 610.72
Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422	

Atena Editora
Ponta Grossa – Paraná - Brasil
www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br

APRESENTAÇÃO

A obra *“Análise Crítica das Ciências Biológicas e da Natureza”* consiste de uma série de livros de publicação da Atena Editora. Com 96 capítulos apresenta uma visão holística e integrada da grande área das Ciências Biológicas e da Natureza, com produção de conhecimento que permeiam as mais distintas temáticas dessas grandes áreas.

Os 96 capítulos do livro trazem conhecimentos relevantes para toda comunidade acadêmico-científica e sociedade civil, auxiliando no entendimento do meio ambiente em geral (físico, biológico e antrópico), suprimindo lacunas que possam hoje existir e contribuindo para que os profissionais tenham uma visão holística e possam atuar em diferentes regiões do Brasil e do mundo. As estudos que integram a *“Análise Crítica das Ciências Biológicas e da Natureza”* demonstram que tanto as Ciências Biológicas como da Natureza (principalmente química, física e biologia) e suas tecnologias são fundamentais para promoção do desenvolvimento de saberes, competências e habilidades para a investigação, observação, interpretação e divulgação/interação social no ensino de ciências (biológicas e da natureza) sob pilares do desenvolvimento social e da sustentabilidade, na perspectiva de saberes multi e interdisciplinares.

Em suma, convidamos todos os leitores a aproveitarem as relevantes informações que o livro traz, e que, o mesmo possa atuar como um veículo adequado para difundir e ampliar o conhecimento em Ciências Biológicas e da Natureza, com base nos resultados aqui dispostos.

Excelente leitura!

José Max Barbosa de Oliveira Junior

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	1
INIBIÇÃO DA PEÇONHA DE <i>Bothrops alternatus</i> (URUTU) 'IN VIVO' PELO PRINCÍPIO ATIVO ISOLADO VEGETAL LUPEOL	
Benedito Matheus dos Santos Klaus Casaro Saturnino Vanderlúcia Fonseca de Paula Mirian Machado Mendes	
DOI 10.22533/at.ed.5901927051	
CAPÍTULO 2	7
INVESTIGAÇÃO DAS ATIVIDADES TÓXICA, ANTIDIARREICA E ANTIESPASMÓDICA DAS PARTES AÉREAS DE <i>SIDA RHOMBIFOLIA</i> L. (MALVACEAE)	
Rafael Lima Marinho Paiva Antônio Raphael Lima de Farias Cavalcanti Rayane Fernandes Pessoa Indyra Alencar Duarte Figueiredo Sarah Rebeca Dantas Ferreira Otemberg Souza Chaves Micaelly da Silva Oliveira Maria de Fátima Vanderlei de Souza Fabiana de Andrade Cavalcante	
DOI 10.22533/at.ed.5901927052	
CAPÍTULO 3	22
INVESTIGAÇÃO DE LECTINA E INIBIDOR DE TRIPSINA EM TUBÉRCULOS DE INHAME (<i>Dioscorea alata</i>) CULTIVADO NO NORDESTE DO BRASIL	
Julia Mariano Caju de Oliveira Edilza Silva do Nascimento Tatiane Santi Gadelha Carlos Alberto de Almeida Gadelha	
DOI 10.22533/at.ed.5901927053	
CAPÍTULO 4	38
ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE FUNGOS FILAMENTOSOS ALERGÊNICOS ENCONTRADOS EM PEÇAS ANATÔMICAS HUMANAS CONSERVADAS EM SOLUÇÃO DE FORMALDEÍDO	
Hércules Gonçalves de Almeida Medeiros Adna Cristina Barbosa de Sousa	
DOI 10.22533/at.ed.5901927054	
CAPÍTULO 5	50
MEIO AMBIENTE GENÉTICO E EMBRIÕES EXCEDENTÁRIOS	
Odair Bufolo Daiane Silva Berdusco Freire Andréia de Fátima Selvati Bredariol	
DOI 10.22533/at.ed.5901927055	

CAPÍTULO 6 62

PRODUÇÃO DE ÁCIDOS PROPANOICO E ACÉTICO POR PROPIONIBACTERIUM ACIDIPROPIONICI ADSORVIDA EM MONTMORILONITA K-10

Taciani do Santos Bella de Jesus
Lucidio Cristovão Fardelone
Gustavo Paim Valença
José Roberto Nunhez
José Augusto Rosário Rodrigues
Paulo José Samenho Moran

DOI 10.22533/at.ed.5901927056

CAPÍTULO 7 72

PRODUÇÃO DE B-GLUCANASES E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E REDUÇÃO DE BIOFILME DE *Candida albicans*

Glaucia Hollaender Braun
Henrique Pereira Ramos
Maria Laura Lucas Natal
Rosemeire Cristina Linhari Rodrigues Pietro

DOI 10.22533/at.ed.5901927057

CAPÍTULO 8 80

PRODUCTION AND STABILITY OF LIPASE AND PECTINASE PRESENT IN AGROINDUSTRIAL RESIDUES

Millena Cristiane de Medeiros Bezerra Jácome
Carlos Eduardo de Araújo Padilha
Murilo Ricardo do Nascimento Arrais
Maria Cecília Bezerra Caldas
Everaldo Silvino dos Santos

DOI 10.22533/at.ed.5901927058

CAPÍTULO 9 84

PROPRIEDADES FÍSICAS E MECÂNICAS DE UM CIMENTO DE IONÔMERO DE VIDRO APÓS ADIÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE TiO₂

Luis Eduardo Genaro
Luana Mafra Marti
Ana Carolina Bosco Mendes
Rafael Amorim Martins
Angela Cristina Cilense Zuanon

DOI 10.22533/at.ed.5901927059

CAPÍTULO 10 91

PURIFICATION OF A XYLANASE FROM *Penicillium crustosum* AND ITS POTENTIAL USE IN CLARIFYING FRUIT JUICE

Jaina Caroline Lunkes
Vanessa Cristina Arfelli
Jorge William Fischdick Bittencourt
Rafael Andrade Menolli
Alexandre Maller
Jose Luís da Conceição Silva
Rita de Cássia Garcia Simão
Marina Kimiko Kadowaki

DOI 10.22533/at.ed.59019270510

CAPÍTULO 11 101

SENSIBILIDADE CELULAR E DE BIOFILME DE *Enterococcus* sp. AOS DESINFETANTES DE USO INDUSTRIAL

Luciana Furlaneto Maia
Naieli Mücke
Márcia Regina Terra
Danielle Karine Ohashi
Talita Butzske Bússolo
Márcia Cristina Furlaneto

DOI 10.22533/at.ed.59019270511

CAPÍTULO 12 115

SIMULAÇÃO NUMÉRICA DA PROPAGAÇÃO DE ONDAS CISALHANTES EM ROCHAS SEDIMENTARES A PARTIR DE IMAGENS MICROTOMOGRÁFICAS DE RAIOS X

Túlio Medeiros
José Agnelo Soares
Ronildo Otávio de Oliveira Neto
Juliana Targino Batista

DOI 10.22533/at.ed.59019270512

CAPÍTULO 13 127

STABILITY OF PECTINASE OF ASPERGILLUS NIGER IOC 4003 IN DIFFERENT SALTS FOR PURIFICATION IN BIPHASIC AQUEOUS SYSTEM

Millena Cristiane de Medeiros Bezerra Jácome
Murilo Ricardo do Nascimento Arrais
Carlos Eduardo de Araújo Padilha
Everaldo Silvino dos Santos

DOI 10.22533/at.ed.59019270513

CAPÍTULO 14 131

TÉCNICA DE FISH APLICADA NA IDENTIFICAÇÃO DA MICROBIOTA DE REATOR DE LODO ATIVADO UTILIZADO NA DEGRADAÇÃO DE BLENIDAS

Lívia Cordi
Nelson Durán

DOI 10.22533/at.ed.59019270514

CAPÍTULO 15 142

TEMPERATURE AND pH EFFECTS ON THE ACTIVITY AND STABILITY OF THR XYLANASES PRODUCED BY THE THERMOPHILIC FUNGUS *Rasamsonia emersonii* S10

Jéssica de Araujo Zandoni
Eleni Gomes
Gustavo O. Bonilla-Rodriguez

DOI 10.22533/at.ed.59019270515

CAPÍTULO 16 147

TRIAGEM DE TRATAMENTO DE *Luffa cylindrica* PARA IMOBILIZAÇÃO DE *Saccharomyces cerevisiae* VISANDO A PRODUÇÃO DE INVERTASE

Beatriz Paes Silva
Brenda Kischkel
Nicolle Ramos dos Santos
André Álvares Monge Neto

DOI 10.22533/at.ed.59019270516

CAPÍTULO 17 159

AÇÃO FIBRINOLÍTICA DE PROTEASES PRODUZIDAS POR BACTÉRIAS ISOLADAS DE AMBIENTES AMAZÔNICOS

Thayana Cruz de Souza
Anni Kelle Serrão de Lima
Michele Silva de Jesus
Raimundo Felipe da Cruz Filho
Wim Maurits Sylvain Degrave
Leila de Mendonça Lima
Ormezinda Celeste Cristo Fernandes

DOI 10.22533/at.ed.59019270517

CAPÍTULO 18 164

ÁCIDO CÍTRICO: UM ENFOQUE MOLECULAR

Letícia Fernanda Bossa
Daniele Sartori

DOI 10.22533/at.ed.59019270518

CAPÍTULO 19 174

ACTINOBACTÉRIAS ISOLADAS DE MANGUEZAL E SEU POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO

Gabriela Xavier Schneider
Jean Carlos Ramos de Almeida
Kassiely Zamarchi
Débora Santos
Danyelle Stringari
Renata Rodrigues Gomes

DOI 10.22533/at.ed.59019270519

CAPÍTULO 20 188

IDENTIFICAÇÃO DE BACTÉRIAS COM A CAPACIDADE DE BIODEGRADAÇÃO DO HERBICIDA ÁCIDO 2,4-DICLOROFENOXIACÉTICO

Juliana Barbosa Succar
Andressa Sbrano da Silva
Lidiane Coelho Berbert
Vinícius Ribeiro Flores
João Victor Rego Ferreira
Alexander Machado Cardoso
Ida Carolina Neves Direito

DOI 10.22533/at.ed.59019270520

CAPÍTULO 21 199

REABILITAÇÃO DE ÁREAS DEGRADADAS PELA MINERAÇÃO DE QUARTZITO COM INSTALAÇÃO DE USINA SUSTENTÁVEL

Gabriel Silva Gomes

DOI 10.22533/at.ed.59019270521

CAPÍTULO 22	218
COMPOSIÇÃO FITOQUÍMICA E TOXICIDADE DAS FOLHAS DE <i>Nectandra megapotamica</i> (Spreng.) Mez (LAURACEAE)	
Viviane Mallmann	
Lucas Wagner Ribeiro Aragão	
Edineia Messias Martins Bartieres	
Valdeci José Pestana	
Shaline Séfara Lopes Fernandes	
Rogério César de Lara da Silva	
Tauane Catilza Lopes Fernandes	
Ana Francisca Gomes da Silva	
DOI 10.22533/at.ed.59019270522	
CAPÍTULO 23	223
CRESCIMENTO DE MUDAS DE <i>Dipteryx odorata</i> (Aubl.) Willd. (Fabaceae) EM SUBSTRATOS ORGÂNICOS COMPOSTOS COM RESÍDUOS DE CASTANHA-DO-BRASIL	
Givanildo Sousa Gonçalves	
Lúcia Filgueiras Braga	
Letícia Queiroz de Souza Cunha	
DOI 10.22533/at.ed.59019270523	
CAPÍTULO 24	236
SUBSTRATOS ORGÂNICOS NO CRESCIMENTO DE MUDAS DE <i>Dipteryx odorata</i> (Aubl.) Willd. (Fabaceae)	
Givanildo Sousa Gonçalves	
Lúcia Filgueiras Braga	
Letícia Queiroz de Souza Cunha	
DOI 10.22533/at.ed.59019270524	
SOBRE O ORGANIZADOR	253

PRODUÇÃO DE ÁCIDOS PROPANOICO E ACÉTICO POR *PROPIONIBACTERIUM ACIDIPROPIONICI* ADSORVIDA EM MONTMORILONITA K-10

Taciani do Santos Bella de Jesus

Faculdade de Engenharia Química da Unicamp,
DEPRO
Campinas - São Paulo

Lucidio Cristovão Fardelone

Instituto de Química da Unicamp
Campinas – São Paulo

Gustavo Paim Valença

Faculdade de Engenharia Química da Unicamp,
DEPRO
Campinas - São Paulo

José Roberto Nunhez

Faculdade de Engenharia Química da Unicamp,
DEPRO
Campinas - São Paulo

José Augusto Rosário Rodrigues

Instituto de Química da Unicamp
Campinas - São Paulo

Paulo José Samenho Moran

Instituto de Química da Unicamp
Campinas - São Paulo

* Os autores Taciani dos Santos Bella de Jesus e Lucidio Cristovão Fardelone contribuíram igualmente para este trabalho.

produção de ácido propanoico quando utilizadas células de *Propionibacterium acidipropionici* adsorvidas em montmorilonita K-10. Também foi desenvolvido um processo de pré-purificação do ácido propanoico do caldo fermentativo, de forma contínua, utilizando 1-octanol através do uso da técnica de perstração.

PALAVRAS-CHAVE: ácido propanoico, ácido acético, *Propionibacterium acidipropionici*, montmorilonita K-10, perstração.

ABSTRACT: The production of propanoic acid by biotechnology process is an extremely important methodology because it has Green Chemistry principles and in this work, a 30% increase in propanoic acid production was obtained when using *Propionibacterium acidipropionici* cells adsorbed in montmorillonite K-10. In addition, a process was developed of pre-purification of the propanoic acid from the fermentative broth, continuously using 1-octanol through the use of the perstraction technique.

KEYWORDS: propanoic acid, acetic acid, *Propionibacterium acidipropionici*, montmorilonita K 10, pertraction.

RESUMO: A produção de ácido propanoico via biotecnologia vem se tornando uma metodologia extremamente importante por possuir princípios de Química Verde e neste trabalho foi obtido um acréscimo de 30% na

1 | INTRODUÇÃO

O ácido propanoico é um dos principais produtos utilizados em processos industriais.

Na indústria química é utilizado como reagente para a obtenção de plastificantes, solventes, agentes emulsionantes, monômeros, resinas, tintas e soluções de galvanoplastia; na agricultura é utilizado como componente de herbicidas (DISHISHA *et al.*, 2012); na área farmacêutica como reagente em produção de princípios ativos (PARIZZI *et al.*, 2012); na indústria alimentícia como conservante, agente antifúngico, na constituição de sabores de frutos artificiais e panificação; na indústria de cosméticos é utilizado como constituinte de perfumes e demais produtos (CAÇCAVAL *et al.*, 2013 e CAÇCAVAL *et al.*, 2009). Também é utilizado como constituinte de produtos de alimentação animal (da COSTA *et al.*, 1999).

O mercado mundial de ácido propanoico foi de 399,4 quilotoneladas em 2014 e há expectativas de que em 2020 supere 470 quilotoneladas, com um crescimento 2,7% ao ano no período de 2014 a 2020 e em valores deste ácido e de seus derivados atingiu a marca de aproximadamente U\$ 1,6 bilhões em 2018 (BUSINESS WIRE, 2016; MARKETS AND MARKETS, 2018).

Comercialmente o ácido propanoico é produzido utilizando-se gás de petróleo liquefeito e propanol; por síntese química utilizando-se propionaldeído ou hidrólise de ésteres (ZHU *et al.*, 2012).

No entanto, processos biotecnológicos vêm sendo desenvolvidos com o objetivo de diminuir os custos de produção, bem como de utilizar matérias primas renováveis, por serem processos ambientalmente corretos.

Na separação do ácido propanoico em escala industrial requer um alto consumo de cal e de ácido sulfúrico, produzindo assim grandes quantidades de efluentes ácidos e resíduos sólidos de sulfato de cálcio (CAÇCAVAL *et al.*, 2013; WASEWAR e PANGAKAR, 2006).

Os processos biotecnológicos para a produção de ácido propanoico utilizando *Propionibacterium acidipropionici* são descritos na literatura, no entanto, ocorrem a produção de subprodutos, como os ácidos acético, succínico, pirúvico, bem como dióxido de carbono e acetato. Quando se utiliza glicose, como fonte de carbono, são obtidos além dos ácidos propanoico e acético o dióxido de carbono.

Com glicerol, ocorre a produção dos ácidos acético, fórmico e succínico, além de propanol (DUARTE *et al.*, 2015; COÊLHO, 2011; ZHANG e YANG, 2009). Sob condições de estresse celular, por aumento da temperatura e/ou pela própria concentração do ácido propanoico produzido, a propionibactéria desvia a sua rota de produção do ácido propanoico para o ácido acético (LIU *et al.*, 2011; SUWANNAKHAM, 2005; GU *et al.*, 1999; GU *et al.*, 1998).

Dentre os processos biotecnológicos em desenvolvimento encontram-se a reciclagem de células, reatores de leito fibroso, adsorção em argilas, sistemas de extração com aminas terciárias ou com carvão ativado (da COSTA *et al.*, 1999) e extração à base de membranas, com o intuito de produtividade.

Neste trabalho desenvolvemos um processo de perstração, pré-purificação, do ácido propanoico, com excelentes resultados de produção via biotecnologia

empregando células de *Propionibacterium acidipropionici* adsorvidas em montmorilonita K-10, seguido de separação com o uso de membranas.

No processo de perstração utiliza-se de membranas com o auxílio de amins terciárias, pequena quantidade de solvente, tanto a amina quanto o solvente são reciclados durante o processo (BOYADZHIEV e LAZAROVA, 1995; WINDMOLLER, 1995).

Dessa maneira, a perstração consiste em uma extração com solventes orgânicos que utiliza uma membrana líquida como barreira, a qual funciona por diferença de gradiente de pH, ácido-base, formando um complexo. (CAÇCAVAL *et al.*, 2013; CAÇCAVAL *et al.*, 2009).

A perstração atua num sistema de três fases, onde o produto é extraído do meio (fase doadora), normalmente aquoso, através de um solvente orgânico imiscível em água (fase extratora) imobilizado nos poros da membrana, passando para uma solução aquosa, fase aceptora, presente no lúmen da membrana (CAÇCAVAL *et al.*, 2013).

A fase orgânica atua como uma barreira entre as fases aquosas, as fases aceptora e doadora, impedindo o contato entre elas (de OLIVEIRA *et al.*, 2008).

A não estabilidade do sistema pode ocasionar uma mistura das fases, orgânica e aquosa (WINDMOLLER, 1995), dificultado todo o processo de produção, pois pode ocasionar o contato direto do solvente com o microrganismo, ocorrendo inibição e a estagnação do processo.

Para contornar este problema se faz o uso de adsorção de células da bactéria *Propionibacterium acidipropionici* em montmorilonita K-10 (DUARTE *et al.*, 2015; MORAN *et al.*, 1999).

A montmorilonita é uma argila utilizada em processos catalíticos heterogêneos, composta essencialmente por minerais do grupo das esmectitas, apresentando fórmula química geral $M_x(\text{Al}_{4-x}\text{Mg}_x)\text{Si}_8\text{O}_{20}(\text{OH})_4$, possui partículas de tamanhos que podem variar de 0,1-2 μm , com tamanho médio de aproximadamente 0,5 μm e formato de placas ou lâminas (PAIVA *et al.*, 2008). Apresenta acidez superficial que é decorrente dos grupos hidroxilas terminais e da interação entre oxigênios.

Em sua cavidade residem cátions trocáveis como Na^+ , Ca^{2+} , Li^+ , fixos eletrostaticamente e com a função de compensar cargas negativas (potencial zeta negativo) geradas por substituições isomórficas que ocorrem no reticulado. Cerca de 80% dos cátions trocáveis na montmorilonita estão presentes nas galerias e 20% se encontram nas superfícies laterais (BRAIBANTE e BRAIBANTE, 2014; PAIVA *et al.*, 2008).

A água e outras moléculas polares, como ácidos orgânicos entre outras, podem penetrar entre as camadas, causando a expansão da montmorilonita K 10, aumentando sua área superficial, 500 a 760 m^2/g , sendo essa propriedade a mais interessante para a sua aplicação, como suporte celular.

Essa propriedade de expansão é reversível, ao menos que a estrutura seja completamente colapsada pela remoção de todas as moléculas polares interlamelares,

as quais podem dificultar ou impossibilitar a expansão da estrutura (BRAIBANTE e BRAIBANTE, 2014).

2 | METODOLOGIA

Foi utilizada a bactéria *Propionibacterium acidipropionici* ATCC 4875, que se encontra em nosso laboratório e armazenada na forma de BCM (Banco de Células Mestre) e BCT (Banco de Células de Trabalho) e, estes bancos foram preparados de acordo com os preceitos internacionais para boas práticas de produção e de laboratório (COECKE *et al.*, 2005; STACEY, 2004; HEALTH PRODUCTS AND FOOD BRANCH INSPECTORATE, 2002).

Os reagentes fosfato monobásico de potássio (KH_2PO_4), fosfato de amônio dibásico ($(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$), sulfato ferroso heptahidratado ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), sulfato de magnésio heptahidratado ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), sulfato de manganês heptahidratado ($\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), sulfato de zinco heptahidratado ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), sulfato de cálcio hexahidratado ($\text{CaSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), sulfato de cobalto hexahidratado ($\text{CoSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) foram adquiridos da Sigma-Aldrich Co, glicose da Synth, extrato de levedura industrial da Kerry, 1-octanol e montmorilonita K-10 da Merck.

Para a expansão celular da *Propionibacterium acidipropionici* ATCC 4875 foi utilizado meio de cultura, pH 6,8, com composição de 1 g/L de KH_2PO_4 , 2 g/L de $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, 5 mg/L de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 10 mg/L de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 2,5 mg/L de $\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 5 mg/L de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 10 mg/L de $\text{CaSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 10 mg/L de $\text{CoSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 10 g/L de extrato de levedura, e 10 g/L para o inóculo e 80 g/L para os processos em biorreator. As expansões celulares, pré-inóculo e inóculo, foram mantidos em *shaker*, sob anaerobiosidade, por 24 h e 48h respectivamente, à temperatura de 30 °C e 120 rpm (CORAL *al.*, 2008).

No processo de pré-purificação se utiliza 1-octanol, assim foi necessário verificar a toxicidade deste álcool, pois este poderia entrar em contato com as células da *Propionibacterium acidipropionici* ATCC 4875 dificultando o processo de produção.

Assim, foram realizados cultivos da *Propionibacterium acidipropionici* ATCC 4875, tanto na ausência como presença do 1-octanol, bem como o uso de montmorilonita K-10 como suporte celular.

2.1 Processo de produção de ácidos propanoico e acético utilizando células livres, na ausência e presença de 1-octanol

Após as expansões celulares, pré-inóculo e inóculo, o conteúdo de 8,0 g de células foram ressuspensas em 400 mL de novo meio de cultura, contendo 80 g/L de glicose como fonte de carbono, e distribuídos em 8 frascos de 50 mL cada, hermeticamente fechados, para ocasionar anaerobiosidade. Em 4 frascos foram adicionados 540 mg/L de 1-octanol.

Todos os frascos foram colocados em estufa microbiológica por 96 horas à temperatura de 30 °C. Amostras foram retiradas a cada 24 horas para análise de produção de ácido propanoico e acético, glicose residual e pH.

2.2 Processo de produção de ácidos propanoico e acético utilizando células adsorvidas em montmorilonita K-10, na ausência e presença de 1-octanol

Após as expansões celulares de pré-inóculo e inóculo, 8,0 g de células, provenientes do inóculo, foram ressuspensas em 400 mL em novo meio de cultura, suplementado com 80 g/L de glicose como fonte de carbono, e este transferido de forma asséptica para um frasco de 50 mL contendo 0,9 g montmorilonita K-10 (Duarte, 2014), da mesma maneira, em 4 frascos foram adicionados 540 mg/L de 1-octanol.

Todos os frascos foram fechados hermeticamente e colocados em *shaker* e mantidos sob agitação de 100 rpm para que ocorresse a adsorção da bactéria ao suporte, mantendo-se a temperatura em 30 °C. Amostras de 1 mL a cada 24 horas foram retiradas do caldo fermentativo para análise de glicose residual, produção dos ácidos propanoico e acético e checagem de pH.

2.3 Método analítico

Para a análise de concentrações dos ácidos propanoico e acético, bem como o de glicose residual, foi utilizada a metodologia analítica descrita por Coral *et al.* (2008) por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência - CLAE, onde o detector utilizado foi o de índice de refração, com coluna Aminex HPX-87H (300 mm x 7,8 mm, Bio-rad) e fase móvel de solução de H₂SO₄ 5 mmol/L, com fluxo 0,6 mL/min. e temperatura do forno de 50 °C. As quantificações dos produtos foram realizadas a partir de curvas de calibrações realizadas com padrões externos.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

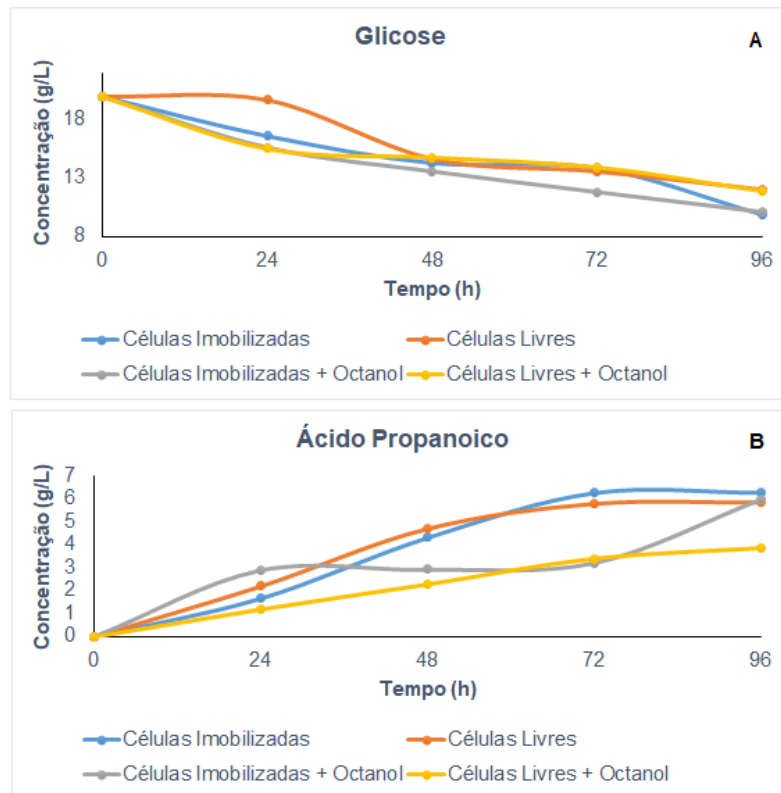
Os resultados demonstram que uma pequena quantidade de 1-octanol provoca efeitos inibitórios para as células de *Propionibacterium acidipropionici* ATCC 4875, a pequena concentração de 540 mg/L de 1-octanol já possui este caráter de inibição, como demonstrado na Tabela 1.

1-Octanol (mg/L)	Glicose (g/L)	Ácido propanoico (g/L)	Ácido acético (g/L)	pH
0	69,96	1,85	0,90	4,21
540	70,37	0,88	0	4,40

1080	75,69	0,68	0	4,88
1620	80,00	0	0	6,26

Tabela 1 - Produção de ácidos propanoico e acético em processo de batelada em frascos, com diferentes concentrações de 1-octanol.

Na Figura 1, estão descritos os perfis de produção dos ácidos propanoico e acético, bem como o consumo de glicose, além da variação de pH durante todo o processo de batelada, por 96 horas.



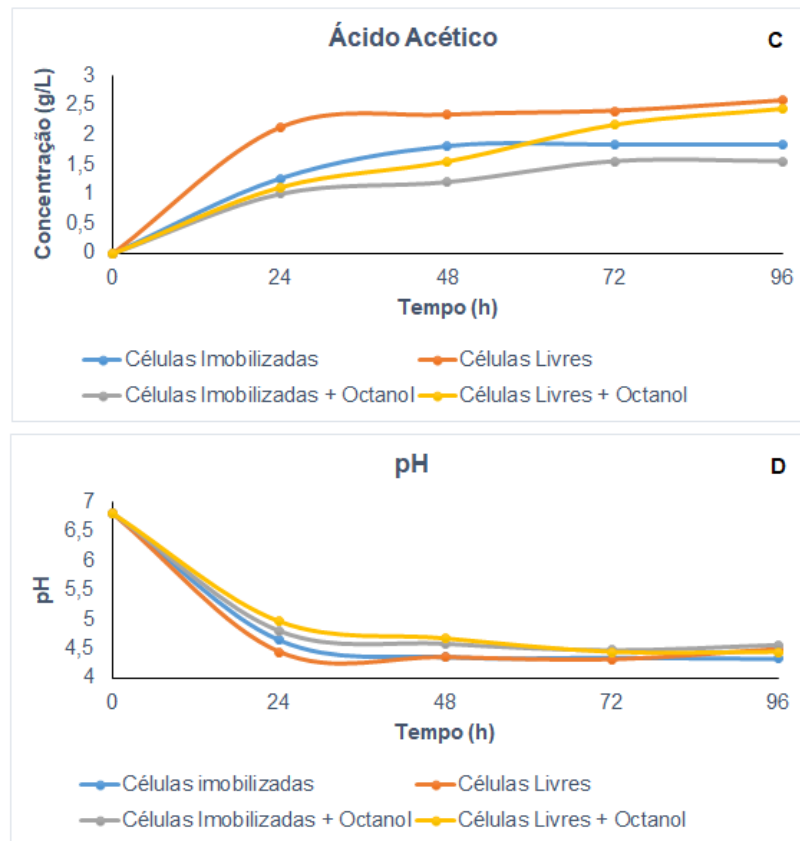


Figura 1 - Perfis do consumo de glicose (A), produção dos ácidos propanoico (B) e acético (C), e variação de pH (D) durante processo de batelada, por 96 horas.

Praticamente não há consumo de glicose, devido a alta concentração de glicose residual, 70,37 g/L, indicando que não ocorreu crescimento celular e conseqüentemente, a produção dos ácidos propanoico e acético, uma vez que esses ácidos são produtos associados ao crescimento celular, sendo obtido somente 0,88 g/L de ácido propanoico e não ocorreu a produção de ácido acético.

Já os processos com células livres de *Propionibacterium acidipropionici* ATCC 4875, na ausência de 1-octanol, consumiu 8,02 g/L de glicose e produziu 5,82 e 2,57 g/L de ácido propanoico e acético, respectivamente.

No entanto, na presença de 1-octanol, esses valores alteram de forma significativa, principalmente para a produção de ácido propanoico, com uma produção 40% menor quando comparado com a produção com células na ausência de 1-octanol (3,83 g/L), e 6 % menor para a produção do ácido acético (2,43 g/L), embora com um consumo de glicose similar para os processos, 8,16 g/L.

Com as células de *Propionibacterium acidipropionici* ATCC 4875 suportadas em montmorilonita K 10, na ausência de 1-octanol, forneceram 6,27 e 1,85 g/L de ácidos propanoico e acético, respectivamente, com um consumo de glicose de 10,15 g/L.

Na presença de 1-octanol o consumo de glicose foi menor, 9,95 g/L, e a produção do ácido propanoico foi de 5,47 g/L, 13% menor quando comparada com as células suportada sem 1-octanol e 30% maior quando comparadas com as células livres com 1-octanol, e para o ácido acético a produção foi de 1,55 g/L, 14% menor, fazendo-se

a mesma comparação com as células suportadas sem 1-octanol e 37% maior quando comparadas com as células livres com 1-octanol.

Assim, a montmorilonita K 10, possui um papel importante para a produção dos ácidos propanoico e acético, pois protege as células e evita o desvio metabólico para a produção do ácido acético.

4 | CONCLUSÕES

Montmorilonita K-10 tem papel fundamental no processo fermentativo na presença de 1-octanol, visto que protege as células de *Propionibacterium acidipropionici*, devido a sua superfície ácida e seu potencial zeta negativo, não permitindo que o 1-octanol iniba por completo o crescimento microbiano e produção dos ácidos. Mostrando que há um acréscimo de 30% na produtividade de ácido propanóico na presença de 1-octanol quando comparada com as células livres na presença de 1-octanol.

Também a Montmorilonita K-10 proporcionou a utilização da técnica de perstração para pré-purificação dos ácidos propionico e acético de forma contínua e esta metodologia poderá ser aplicada em maior escala.

5 | AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem os suportes financeiros do projeto: FAPESP -2016/12074-7, CAPES 1643936 e PNPd e CNPq.

REFERÊNCIAS

BRAIBANTE, H. T.; BRAIBANTE, M. E. F. *Ciência e Natura*, v. 36, p. 724-731, 2014.

BOYADZHIEV, L.; LAZAROVA, Z. Chapter 7: Liquid Membranes (Liquid Pertraction). In: NOBLE, R. D.; STERN, S. A. *Membrane Science and Technology Principles and Applications*, Elsevier, p. 283-352, 1995.

BUSINES WIRE Global carboxylic acid market report - analysis, technologies & forecast report, *New York, E.U.A.*, p. 2016-2021, 2016.

CAŞCAVAL, D.; GALACTION, A. I.; TURNEA, M. *J. Memb. Sci.*, v 328, p. 228-237, 2009.

CAŞCAVAL, D.; POŞTARU, M.; GALACTION, A.; KLOETZER, L.; BLAGA, A. C. *Ind. Eng. Chem. Res.*, v 52, p. 2685-2692, 2013.

COELHO, D. G. Modelagem e otimização do processo de síntese do ácido propanoico via fermentação do glicerol. Faculdade de Engenharia Química - Universidade Estadual de Campinas - Unicamp, Campinas - SP, 118p (dissertação de Mestrado), 2011.

COECKE, S.; BALLS, M.; BOWE, G.; DAVIS, J.; GSTRAUNTHALER, G.; HARTUNG, T.; HAY, R.; MERTEN, O.-W.; PRICE, A.; SCHECHTMAN, L.; STACEY, G.; STOKES, W. *Guidance on Good Cell Culture Practice*. ATLA 33:261-287 (2005). Available in the Best Practices (GCCP) on the ESACT-UK. The UK Society for Cell Culture Biotechnology, website at <http://www.esactuk.org.uk/>

- CORAL, J.; KARP, S. G.; de SOUZA, V. P.; PARADA, J. L.; PANDEY, A.; SOCCOL, C. R. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, v 151, p. 333-341, 2008
- da COSTA, J. P. L. C.; SCHORM, C.; QUESADA-CHANTO, A.; BODDEKER, K. W.; JONAS, R. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, v 76, p. 99-105, 1999.
- de OLIVEIRA, A. R. M.; MAGALHÃES, I. R. S.; de SANTANA, F. J. M.; BONATO, P. S. *Química Nova*, v 31, p. 637-644, 2008.
- DISHISHA, T.; ALVARES, M. T.; KAUL, R. H. *Bioresour. Technol.*, v 118, p. 553-562, 2012
- DUARTE, J. C. Produção de ácidos orgânicos C-3 e C-4 através da fermentação de diferentes substratos por *Propionibacterium acidipropionici*. Tese de Doutorado - Faculdade de Engenharia Química - Universidade Estadual de Campinas - Unicamp, Campinas - SP, 228p (Tese de Doutorado), 2014.
- DUARTE, J. C.; VALENÇA, G. P.; MORAN, P. J. S.; RODRIGUES, J. A. R. *AMB Express*, v 5 (13), 2015.
- GU, Z.; GLATZ, B. A.; GLATZ, C. E. *Enzyme Microb. Technol.*, v 22, p. 13-18, 1998.
- GU, Z.; RICKERT, D. A.; GLATZ, B. A.; GLATZ, C. E. *Lait*, v 79, p. 137-148, 1999.
- HEALTH PRODUCTS AND FOOD BRANCH INSPECTORATE - Annex 2 to the current edition of the good manufacturing practices guidelines schedule drugs (biological drugs) - GUI-0027, 2002.
- LIU, Y.; ZHANG, Y. G.; ZHANG, R. B.; ZHANG, F.; ZHU, J. *Curr. Microbiol.*, v 62, p. 152-158, 2011.
- MARKETS AND MARKETS Propionic Acid Market & Derivatives by Applications (Animal Feed & Grain Preservatives, Food Preservatives, Herbicides, Cellulose Acetate Propionate) & Geography – Global Trends & Forecasts To 2018. *E.U.A.*, 228 p, 2018.
- MORAN, P. J. S; RODRIGUES, J. A. R.; OLIVEIRA FILHO, A. P. *Synth. Commun.*, v 29, p. 2169-2174, 1999.
- PAIVA, L. B.; MORALES, A. R.; DIAZ, F. R. *Cerâmica*, v 54, p. 213-226, 2008.
- PARIZZI, L. P.; GRASSI, M. C. B.; LLERENA, L. A.; CARAZZOLLE, M. F.; QUEIROZ, V. L.; LUNARDI, I.; ZEIDLER, A. F.; TEIXEIRA, P. J. P. L.; MIECZKOWSKI, P.; PINCONES, J.; PEREIRA, G. A. G. *BMC Genomics*, v. 13, p. 1-20, 2012.
- STACEY, G. Fundamental issues for cell-line banks in biotechnology and regulatory affairs. In life in the frozen state. B. J. Fuller, N.Lane, and E. E. Benson; Eds., CRC Press LLC, Boca Raton, Florida, p. 437-452, 2004.
- TYAGI, R. D.; GUPTA S. K.; CHAND, S. Process engineering studies on continuous ethanol production by immobilized *S. cerevisiae*. *Proc. Bioch.*, v. 27, p. 23-32, 1992.
- SUWANNAKHAM, S. Metabolic engineering for enhanced propionic acid fermentation by *Propionibacterium acidipropionici*, Ohio State University, Ohio - E.U.A, 258p (PhD Thesis), 2005.
- WASEWAR, K. L.; PANGAKAR, V. G. *Chem. Biochem. Eng. Q*, v 20, p. 325-331, 2006.
- WINDMOLLER, D. Extração de ácidos carboxílicos através de membranas: (perstração). Instituto de Química - Universidade Estadual de Campinas, Campinas - SP, 126p (Tese de Doutorado), 1995.

ZHANG, A.; YANG, S. T. *Proc. Biochem.*, v 44, p. 1346-1351, 2009.

ZHU, L.; WEI, P.; CAI, J.; ZHU, X.; WANG, Z.; HUANG, L.; XU, Z. *Bioresour. Technol.*, v 112, p. 248-253, 2012.

Agência Brasileira do ISBN
ISBN 978-85-7247-359-0

