

Avanços Científicos e Tecnológicos em Bioprocessos

Alberdan Silva Santos
(Organizador)



Atena
Editora

Ano 2018

Alberdan Silva Santos
(Organizador)

Avanços Científicos e Tecnológicos em Bioprocessos

Atena Editora
2018

2018 by Atena Editora

Copyright © da Atena Editora

Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Diagramação e Edição de Arte: Geraldo Alves e Natália Sandrini

Revisão: Os autores

Conselho Editorial

Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
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
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
Profª Drª Deusilene Souza Vieira Dall’Acqua – Universidade Federal de Rondônia
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionale delle Figlie de Maria Ausiliatrice
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)

A946 Avanços científicos e tecnológicos em bioprocessos [recurso eletrônico] / Organizador Alberdan Silva Santos. – Ponta Grossa (PR): Atena Editora, 2018.

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

ISBN 978-85-85107-47-5

DOI 10.22533/at.ed.475180110

1. Bioprocessos. 2. Bioquímica. 3. Biotecnologia. I. Santos, Alberdan Silva.

CDD 553.7

Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422

O conteúdo do livro e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores.

2018

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.

www.atenaeditora.com.br

APRESENTAÇÃO

Avanços Científicos e Tecnológicos em Bioprocessos é uma obra que reúne vinte e três capítulos com temas em pesquisas científicas realizadas no campo da biotecnologia, e que envolve agentes biológicos e bioquímicos na geração de produtos ou processos. Nesta obra se concentram diversos avanços descritos nas metodologias e nos resultados, distribuídos em quatro tópicos principais, envolvendo: processos químicos e biotecnológicos no aproveitamento de resíduos; produção de metabólitos e enzimas; métodos analíticos e de simulação; e biotratamentos envolvidos na geração de energias. Esta obra foi escrita por jovens pesquisadores brasileiros que estão desenvolvendo suas teses e/ou dissertações em instituições nacionais. Por este motivo, os aspectos inovadores e o alcance dos resultados apresentados podem ser um grande estímulo para aqueles que visam conhecer com maior amplitude alguns dos aspectos biotecnológicos estudados em algumas das instituições de nosso país.

Alberdan Silva Santos

SUMÁRIO

EIXO 1: PROCESSOS BIOTECNOLÓGICOS APLICADOS NA PRODUÇÃO DE ENZIMAS E PROTEÍNAS

CAPÍTULO 1 1

AMYLASES IN PROTEIN SECRETOME PROFILE FROM *Aspergillus sp* WITH POTENTIAL TO DECONSTRUCT INTEGRAL STARCH

Patrícia Suelene Silva Costa Gobira
Rubens Menezes Gobira
Ricardo Felipe Alexandre de Mello
Hellen Kempfer Phillippsen
Nelson Rosa Ferreira
Alberdan Silva Santos

CAPÍTULO 2 7

PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA DE FRUTOSILTRANSFERASE EXTRACELULAR MICROBIANA PARA A SÍNTESE DE FRUTOOLIGOSSACARÍDEOS EM ESCALA LABORATORIAL

Rafael Firmani Perna
Josivan de Sousa Cunha
Sergio Andres Villalba Morales
Michelle da Cunha Abreu Xavier
Cristiane Angelica Ottoni
Elda Sabino da Silva
Alfredo Eduardo Maiorano

CAPÍTULO 3 23

ENZYMATIC COCKTAIL PRODUCED BY *Fusarium sp* WITH POTENTIAL TO DECONSTRUCT CRUDE CASSAVA STARCH (*Manihot esculenta Crantz*).

Patrícia Suelene Silva Costa Gobira
Elaine Cristina Souza Medeiros
Rubens Menezes Gobira
Ricardo Felipe Alexandre de Mello
Alberdan Silva Santos

CAPÍTULO 4 28

THE SYSTEMATIC INVESTIGATION OF L-ASPARAGINASE PRODUCED BY FILAMENTOUS FUNGI

Eliane Silva e Silva
Alberdan Silva Santos
Márcia Gleice da Silva Souza
Rubens Menezes Gobira
Maria Inez de Moura Sarquis

CAPÍTULO 5 33

EVALUATION OF METHYLOCYSTIS HIRSUTA GROWTH ON SUPPLEMENTED MINERAL MEDIA USING METHANE AS CARBON SOURCE

Rodrigo Pimentel Fernandes
Ana Cristina Pantoja Simões
Manuela Temtemples de Carvalho
Camila Ruiz Lopes
Nei Pereira Jr

CAPÍTULO 6 37

BIOTECHNOLOGICAL PRODUCTION OF ENZYMATIC EXTRACT WITH CELULOLYTICAL ACTIVITY FROM AGROINDUSTRY RESIDUES

Ivanilton Almeida Nery
Karine Belo Rocha de Lima
Marlon Castro da Silva
Edmir Fernandes Ferreira

EIXO 2: APROVEITAMENTO DE RESÍDUOS EM PROCESSOS BIOTECNOLÓGICOS E QUÍMICOS

CAPÍTULO 7 41

VALORIZAÇÃO DE RESÍDUOS DA PALMA DE ÓLEO (*ELAEIS SP*) PARA PRODUÇÃO DE POLISSACARÍDEOS EXTRACELULARES POR *PLEUROTUS OSTREATUS*

Jhonatas Rodrigues Barbosa
Maurício Madson dos Santos Freitas
Marcos Enê Chaves Oliveira

CAPÍTULO 8 50

AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO DE *Bacillus subtilis* UFPEDA 86 E DA PRODUÇÃO DE BIOSURFACTANTE UTILIZANDO RESÍDUOS DE FRUTAS COMO SUBSTRATOS

Camylla Carneiro Soares
Adrielly Silva Albuquerque de Andrade
Fábio Cirqueira da Silva
Andréa Farias de Almeida
Janice Izabel Druzian
Ana Katerine de Carvalho Lima Lobato

CAPÍTULO 9 65

ESTUDO DO REAPROVEITAMENTO DOS RESÍDUOS SÓLIDOS DA INDÚSTRIA CACAUEIRA.

Rhuany de Oliveira Silva
Iara Rebouças Pinheiro
Isabela Nascimento Tavares Ferreira

CAPÍTULO 10 70

BIOPRODUCTS FROM *Trichoderma harzianum* AS INDUCER OF RESISTANCE TO ANTHRACNOSE IN BEANS

Emanuele Junges
Marlove Fátima Brião Muniz
Ângela Diniz Campos
Thiarles Brun
Cleudson José Michelin
Marcio Antônio Mazutti

CAPÍTULO 11 81

ANALYSIS OF PRE-TREATMENT OF PINEAPPLE WASTE WITH HYDROGEN PEROXIDE IN THE OBTENTION OF TOTAL REDUCING SUGARS

Fernanda Ferreira Freitas
Lorena Costa Vasconcelos Macedo

Carlos Alberto Galeano Suarez
Araceli Aparecida Seolato
Inti Doraci Cavalcanti-Montaño,
Paula Rubia Ferreira Rosa

EIXO 3: MÉTODOS ANALÍTICOS, CINÉTICA, SIMULAÇÃO E MODELOS MATEMÁTICOS APLICADOS EM PROCESSOS

CAPÍTULO 12 86

USE OF LINEAR EQUATIONS FOR DETERMINATION OF APPARENT KINETIC PARAMETERS IN CELLULOLYTIC MEDIUM WITH *Trichoderma virens*

Nelson Rosa Ferreira
Suelem Paixão da Silva
Rubens Menezes Gobira
Maria Inez de Moura Sarquis
Alberdan Silva Santos

CAPÍTULO 13 92

PRODUCTION OF COMMON ORANGE FERMENTED BEVERAGE: KINECTIC STUDY AND SENSORY ANALYSIS

Jacqueline de Moraes Campêlo
Olga Martins Marques

CAPÍTULO 14 97

MATHEMATICAL MODELING OF GLUCOSE ACCUMULATION DURING ENZYMATIC HYDROLYSIS OF CARRAGEENAN WASTE

Samuel Conceição Oliveira
Fernando Roberto Paz Cedeno
Fernando Masarin

CAPÍTULO 15 104

PRODUÇÃO DE ESPOROS DE *Metarhizium anisopliae* POR CULTIVO SÓLIDO EM BIORREATOR DE TAMBOR ROTATIVO COM ROTAÇÃO INTERMITENTE: APLICAÇÃO DE MODELOS MATEMÁTICOS PARA PREDIÇÃO DE PERFIS DE TEMPERATURA

Érika Fernanda Rezendes Tada
Lucas Portilho da Cunha
João Cláudio Thoméo

CAPÍTULO 16 121

DETERMINAÇÃO DO FATOR DE EFETIVIDADE PARA ENZIMAS IMOBILIZADAS USANDO MÉTODOS DE REGRESSÃO SIMBÓLICA VIA PROGRAMAÇÃO GENÉTICA

Félix Monteiro Pereira
Luciano Eduardo Gomes Junior
Fabrício Maciel Gomes
Messias Borges Silva
Samuel Conceição Oliveira

CAPÍTULO 17 133

DEVELOPMENT OF ANALYTICAL METHOD, BY SPECTROSCOPY IN THE MIDINFRARED, AND MULTIVARIATE CALIBRATION FOR ETHANOL QUANTIFICATION IN THE FERMENTED MANGO

PULP (*Mangifera indica* L.) VARIETY BACURI.

Rubens Menezes Gobira
Patrícia Suelene Silva Costa Gobira
Ricardo Felipe Alexandre de Mello
Graziela Cristiane Telles da Silva
Sanclayton Geraldo Carneiro Moreira
Alberdan Silva Santos

CAPÍTULO 18 **138**

MÉTODOS DE IMOBILIZAÇÃO PARA ESTABILIZAÇÃO DE ENZIMAS

Anderson dos Santos Barbosa
Danyelle Andrade Mota
Lays Carvalho de Almeida
Juliana Lisboa Santana
Nayára Bezerra Carvalho
Sílvia Regina Soares Martins

CAPÍTULO 19 **156**

CINÉTICA DE DEGRADAÇÃO DAS ANTOCIANINAS E DA CORDO EXTRATO DE *Eugênia involucrata* NA PRESENÇA E NA AUSÊNCIA DE AGENTES CONSERVANTES NA TEMPERATURA DE 90°C

Lauren Menegon de Oliveira
Francine Antelo

EIXO 4: BIOTRATAMENTOS PARA GERAÇÃO DE ENERGIA E BIOPRODUTOS

CAPÍTULO 20 **163**

BIOTRATAMENTO DE VINHAÇA SINTÉTICA E GERAÇÃO DE ELETRICIDADE UTILIZANDO UMA CÉLULA A COMBUSTÍVEL MICROBIANA

Cristiane Angélica Ottoni
Marta Filipa Simões
Jonas Gomes dos Santos
Luciana Peixoto
Rodrigo Fernando Brambilla de Souza
Almir Oliveira Neto
António Guerreiro de Brito
Alfredo Eduardo Maiorano

CAPÍTULO 21 **172**

RECUPERAÇÃO DE BIOPRODUTOS A PARTIR DA GASEIFICAÇÃO DO LODO DE ESGOTO SANITÁRIO

Renan Barroso Soares
Ricardo Franci Gonçalves

CAPÍTULO 22 **179**

BIOPROSPECTING CAROTENOIDS PRODUCTION IN THREE BRAZILIAN MICROALGAE SPECIES

Sabrina da Silva Mesquita
Natália Guimarães Figueiredo
Inaiã Costa Cutrim
Simone Carvalho Chiapetta
Cláudia Maria Luz Lapa Teixeira
Eliana Flávia Camporese Sérvulo

CAPÍTULO 23 184

EFFECT OF TEMPERATURE AND SALINITY ON THE PRODUCTION OF CAROTENOIDS AND LIPIDS BY MARINE MICROALGA

Nicéia Chies Da Fré
Alessandro de Oliveira Rios
André Jablonski
Rosane Rech
Nilson Romeu Marcílio

SOBRE O ORGANIZADOR..... 193

USE OF LINEAR EQUATIONS FOR DETERMINATION OF APPARENT KINETIC PARAMETERS IN CELLULOLYTIC MEDIUM WITH *Trichoderma virens*

Nelson Rosa Ferreira

Universidade Federal do Pará – UFPA
Belém-Pará

Suelem Paixão da Silva

Universidade Federal do Pará – UFPA
Belém-Pará

Rubens Menezes Gobira

Universidade Federal do Pará – UFPA
Belém-Pará

Maria Inez de Moura Sarquis

Instituto Oswaldo Cruz
Rio de Janeiro-RJ

Alberdan Silva Santos

Universidade Federal do Pará – UFPA
Belém-Pará

ABSTRACT: The selection of microorganisms with the potential of deconstruction of cellulose to obtain fermentable sugars has been the subject of research to obtain lineages with technological potential. The Submerged mycelial culture is a technique that allows a quick response on the lineage of interest. The determination of the apparent kinetic parameters K_M and V_{max} is essential to evaluate initially the enzyme's affinity for the substrate and the maximum rate of product formation. In this sense, the cultivation of the microorganism was performed in conical flasks with orbital agitation where

mycelium of *Trichoderma virens* isolated from marine xylophagous was inoculated. For the determination of K_M and V_{max} the liquid culture was used as the enzymatic agent. The values of K_M and V_{max} were estimated by the methods of Lineweaver-Burk, Hanes, Eadie-Hofstee and Carvalho. It was observed that the models of Hanes and Carvalho were the ones who presented values of K_M closer to each other, and the values of K_M and V_{max} for Lineweaver-Burk became more away from others models. It was noted, however, that the coefficient of determination for Lineweaver-Burk showed a higher quality adjustment.

KEYWORDS: Submerged culture, *Michaelis constant*, *Trichoderma*.

RESUMO: A seleção de micro-organismos com potencial de desconstrução de celulose para obtenção de açúcares fermentáveis tem sido o foco de pesquisas com intuito de obter linhagens com potencial tecnológico. O cultivo micelial submerso é uma técnica que permite uma resposta rápida sobre a linhagem de interesse. A determinação dos parâmetros cinéticos aparentes K_M e V_{max} é essencial para avaliar inicialmente a afinidade da enzima pelo substrato e a taxa máxima de formação do produto. Neste sentido, o cultivo do micro-organismo foi realizado em frascos cônicos com agitação orbital, onde foi inoculado o

micélio de *Trichoderma virens* isolado de xilófagos marinhos. Para a determinação de K_M e V_{max} , utilizou-se a cultivo líquido como agente enzimático. Os valores de K_M e V_{max} foram estimados pelos métodos de Lineweaver-Burk, Hanes, Eadie-Hofstee e Carvalho. Observou-se que os modelos de Hanes e Carvalho foram os que apresentaram valores de K_M mais próximos entre si, e os valores de K_M e V_{max} para o Lineweaver-Burk ficaram mais distantes dos outros modelos. No entanto, foi observado que o coeficiente de determinação de Lineweaver-Burk apresentou um melhor ajuste.

PALAVRAS-CHAVES: Cultivo submerso, constante de Michaelis, *Trichoderma*.

1 | INTRODUCTION

Trichoderma spp. are filamentous fungi present in different habitats and commonly found in the soil and decaying wood. It is the genus of filamentous fungi more susceptible to cultivation in synthetic medium, demonstrating a high opportunistic potential and adaptabilidade to diverse environmental conditions. They are efficient producers of many extracellular enzymes that can act to form synergistic in cellulolytic substrates through the action of two Exoglucanases (CBHI and CBHII), five Endoglucanases (EGI, EGII, EGIII, EGIV, and EGV), and two glycosidases (BGI and BGII) (SINGH et al., 2009).

Several current computer systems allow a nonlinear adjustment for the determination of kinetic parameters, however, a linear fit is simpler to be presented and enables an understanding of the experimental points which have larger deviation of a Michaelis-Menten type behavior (CARVALHO et al., 2010). In this work, four different linear equations were used in order to compare the final results of the apparent kinetic parameters K_m and V_{max} and to determine which linear regression method produces the best parameters that represent the culture in liquid medium under the established conditions.

2 | METHODOLOGY

2.1 Preparation of the inoculum

The lineage of *Trichoderma virens* was isolated from a *marine xylophagous* (FERREIRA, 2012). The primary cultivation of this lineage was grown in GPY medium (glucose 20 g L⁻¹, peptone 5 g L⁻¹, yeast extract 5 g L⁻¹ and agar 20 g L⁻¹; pH 6.8) from mycelia fragments preserved in glycerol (5%). Subsequently, the microorganism was grown on CMC agar (peptone 2.5 g L⁻¹; yeast extract 2.5 g L⁻¹; sodium carboxymethyl cellulose 10 g L⁻¹ and agar 15 g L⁻¹; pH 5.0) for 72 hours. Fragments of mycelium (100 units) measuring 3.0 mm were used as inoculum for submerged culture.

2.2 Submerged culture

The submerged culture was performed in conical flasks with orbital agitation in 500 mL of liquid medium: yeast extract 1.0 g L⁻¹; KH₂PO₄ 1.1 g L⁻¹; MgSO₄·7H₂O 0.1 g L⁻¹; NaNO₃ 0.1 g L⁻¹; CaCl₂·2H₂O 0.3 g L⁻¹; microcrystalline cellulose 5.0 g L⁻¹ and tween 80 1.0 g L⁻¹; initial pH 4.8, 150 RPM at 29° C for 8 days. The pH was controlled at 5.0 by the addition of HCl 50% (v/v). After the end of submerged culture, the biomass was separated from the liquid phase by filtration through glass wool. This liquid phase was called “enzymatic preparation” and was used as enzyme agent in the assays.

2.3 Reducing sugars measurement

The Reducing sugars measurement was carried out from the modified methodology proposed by Miller (FERREIRA, 2012).

2.4 CMCase activity determination

CMCase activity was determined using 500 µL of the enzymatic preparation and 1000 µL of carboxymethylcellulose (CMC) in sodium citrate buffer (0.15 M, pH 4.8). The system was incubated at 60°C for 30 minutes in a dry bath at 400 RPM. CMCase activity was defined as relative CMCase = UCM/mL*, UCM was defined as the amount of enzyme capable of releasing a micromol (µmol) of reducing sugars per minute and mL* represents the volume of enzymatic preparation. The assays were performed in triplicate.

2.5 Determination of apparent kinetics parameters

The reactional conditions were established at 60°C using the enzymatic preparation and CMC as a cellulosic substrate at concentrations between 0.3 and 3.3 g L⁻¹ in citrate buffer (0.15 M, pH 4.8). The kinetic parameters were determined by linear regression using a statistical computer program with the results expressed as KM, Vmax and R2 at a confidence level of 95%. The Lineweaver-Burk, Hanes, Eadie-Hofstee and Carvalho et al models were used as shown in equations 1 to 4 respectively (CARVALHO et al., 2010).

$$\frac{1}{V} = \frac{K_M}{V_{max}} \cdot \frac{1}{S} + \frac{1}{V_{max}} \quad (1)$$

$$\frac{S}{V} = \frac{K_M}{V_{max}} + \frac{S}{V_{max}} \quad (2)$$

$$V = V_{max} - K_M \cdot \left(\frac{V}{S}\right) \quad (3)$$

$$S = V_{max} \cdot \left(\frac{S}{V}\right) - K_M \quad (4)$$

3 | RESULTS AN DISCUSSION

The graph of (V vs S) and their respective values are the starting point for obtaining all the evaluated models (figure 1). The error bars represent the standard deviations ($n = 3$) of velocity measurements. This result shows that the reaction rates measured in this work can be applied to the Michaelis-Menten kinetic model, which is characterized by the hyperbolic profile.

It can be seen in table 1 that the Hanes and Carvalho et al models presented the KM values very close. The largest relative difference of KM was in the order of 23% between Carvalho et al and Lineweaver-Burk. Among the calculated determination coefficients (R^2), it was observed that Lineweaver-Burk presented the highest value (0.997) and Eadie-Hofstee the lowest value (0.931). The equations obtained from each linear regression method and your graphical representation are presented in Figure 2 (A-D).

The use of the Hofstee Eadie and Carvalho et al equations are simpler since the linear and angular coefficients of the lines directly give the values of V_{max} and $-K_M$ (Eq. 3 and 4). Despite the high correlation between the variables plotted by Lineweaver-Burk, this model tends to agglomerate the points at higher substrate concentrations, unlike what happens for the other methods (Figure 2A). Analyzing only the EadieHofstee model it was possible to observe that the dependent variable V (hydrolysis speed observed for each substrate concentration) appears in both the coordinates, leading to the errors propagation. This may explain to some extent the smallest value of R^2 observed experimentally for this model.

According to Carvalho et al. (2010), the Hanes equation (Eq. 2) was investigated by Lineweaver and Burk who concluded that the Hanes equation produced better results for low substrate concentrations. Otherwise, according to Castro et al., 2010, the Hanes model is presented as the most accurate for the estimation of kinetic parameters but the independent variable appears on both sides of the equation and the x-axis is IS not $1/[S]$ as in the Lineweaver-Burk plot. V_{max} and K_M are not read directly off the plot.

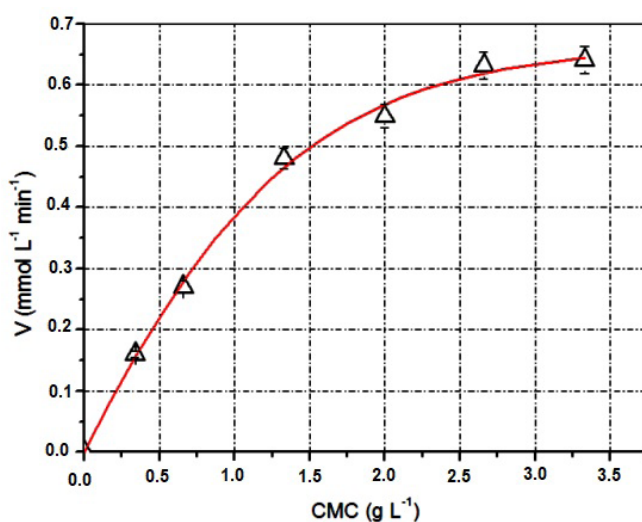


Figure 1. Graph V vs S (concentration of CMC as cellulosic substrate) and enzymatic preparation.

The table 1 shows the confidence intervals (CI) for each kinetic parameter evaluated. It was observed that Lineweaver-Burk presented the best determination coefficient, but also presented the highest relative errors of KM and Vmax ($\pm 20\%$ and $\pm 17\%$ respectively) when the CI was evaluated. The lowest relative errors of KM and Vmax were observed for the Hanes ($\pm 9\%$ and $\pm 5,5\%$ respectively) and Carvalho ($\pm 8\%$ and 6% respectively) models. The Carvalho equation has a manipulation advantage over the Hanes equation because the values of Vmax and -KM appear directly as the angular and linear coefficients of the line (Eq. 4). The Hofstee plot estimates of KM and Vmax have smaller standard errors than those based on Lineweaver-Burk plot but the estimates of KM and Vmax are not as close to those obtained using the Hanes and Carvalho models.

	KM - CI	V _{max} (mmol L ⁻¹ min ⁻¹) - CI	R ²
Lineweaver-Burk \pm SE	2.01 \pm 0.40 (1.61 at 2.41)	1.107 \pm 0.188 (0.919 at 1.295)	0.9970
Hanes \pm SE	1.66 \pm 0.15 (1.51 at 1.81)	0.997 \pm 0.055 (0.942 at 1.052)	0.9808
Eadie-Hofstee \pm SE	1.79 \pm 0.30 (1.49 at 2.09)	1.033 \pm 0.098 (0.935 at 1.131)	0.9310
Carvalho et al. \pm SE	1.60 \pm 0.13 (1.47 at 1.73)	0.978 \pm 0.063 (0.915 at 1.041)	0.9808

Table 1. Kinetic parameters Vmax and KM obtained by different methods of linear regression (SE: standard error of mean and CI: confidence interval on the mean).

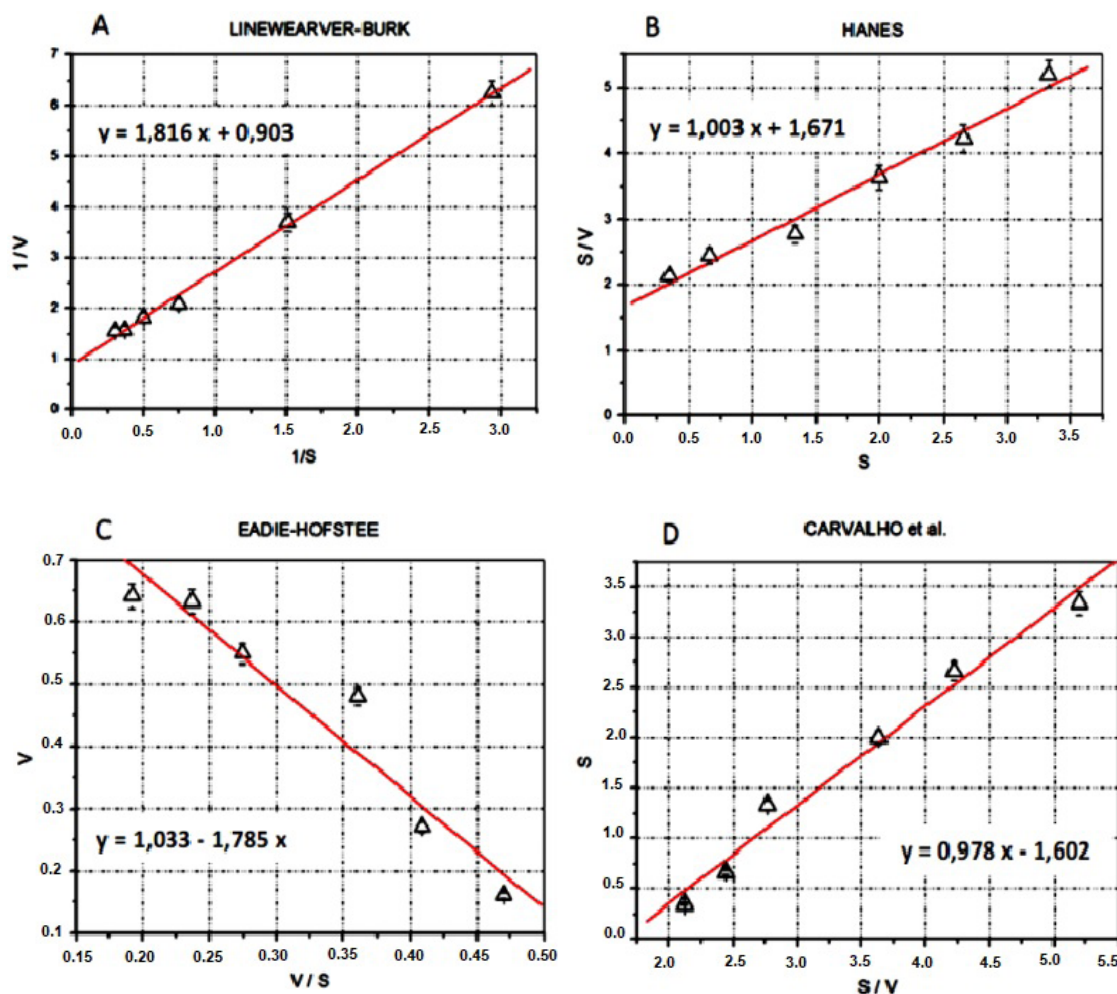


Figure 2. Graphical representations and equations obtained from linear regressions using CMC and enzymatic preparation.

4 | CONCLUSIONS

The results obtained by Hanes and Carvalho et al showed higher enzyme-substrate affinity with better distribution of experimental points, not being influenced by agglomerated points at low concentrations. In Carvalho et al the apparent kinetic parameters K_M and V_{max} are obtained directly by means of the coefficients of the line. In addition, these parameters presented confidence interval values close to the Hanes model for the same confidence level of 95%. Thus, it is believed that in the experimental conditions of this study, Carvalho et al presented as the best linear regression model.

REFERENCES

CARVALHO, N.M.F.; PIRES, B.M.; ANTUNES, O.A.C.; FARIA, R.B. Uso de equações lineares na determinação dos parâmetros de Michaelis Menten. **Química Nova**, v. 33, p. 1607-1611, 2010.

CASTRO, A.M. et al. High-Yield Endoglucanase Production by *Trichoderma harzianum* IOC-3844 Cultivated in Pretreated Sugarcane Mill Byproduct. **Enzyme Research**, p.1–8, 2010.

FERREIRA, N.R. Produção e caracterização do complexo celulolítico de fungos filamentosos naturalmente ocorrentes em moluscos xilófagos (*Neoteredo reynei*). 2012. 101 f. **Tese de Doutorado**. Universidade Federal do Pará.

SINGH, R.; KUMAR R.; BISHNOI K.; BISHNOI N. Optimization of synergistic parameters for thermostable cellulase activity of *Aspergillus heteromorphus* using response surface methodology. **Biochemical Engineering Journal**, v. 48, p. 28–35, 2009.

SOBRE O ORGANIZADOR

ALBERDAN SILVA SANTOS é Professor associado das faculdades de Química e Biotecnologia da UFPA; É Engenheiro Químico graduado pela UFPA; É Mestre em Química e Biotecnologia pelo Instituto de Química e Biotecnologia da UFPA; É Doutor em Bioquímica (Biotransformações com ênfase em oxidações microbiológicas) pelo Instituto de Química da UFRJ. Realizou Estágio pós-doutoral no Departamento de Biotecnologia do Instituto de Agroquímica e Tecnologia de Alimentos - IATA de Valencia, na Espanha. Atua no ensino de graduação e Pós-graduação no qual orienta Mestrandos e Doutorandos. Coordena projetos de cunho acadêmico-científico nos Laboratórios de Investigação Sistemática em Biotecnologia e Biodiversidade Molecular da UFPA, em áreas estratégicas como: Biotransformações; produção de enzimas; desenvolvimento de processos biotecnológicos no aproveitamento de resíduos agroindustriais para a produção de biomoléculas de interesse médico, cosméticas e farmacêutica; produção de biomoléculas a partir de cultivo de micro-organismos e cultivo de células vegetais. Aplica técnicas avançadas de Metabolômica e Lipidômica (CG/EM, LC/MS) na investigação metabólica de plantas e micro-organismos. Contribuiu na criação do curso de graduação e do programa de pós-graduação em Biotecnologia da UFPA. Foi o 1º Diretor da Faculdade de Biotecnologia da UFPA no período de 2009-2011. Atuou como vice-coordenador protempore do Programa de Pós-graduação em Biotecnologia da UFPA. Possui diversas publicações nas áreas da Química e Biotecnologia, assim como patentes. Recebeu a primeira Carta Patente na UFPA em dezembro de 2013. É pioneiro na otimização de processo de produção de metabólitos secundários e enzimas em cultura de células vegetais e de micro-organismos na Região Norte do Brasil.

Agência Brasileira do ISBN
ISBN 978-85-85107-47-5

