

URI – CAMPUS ERECHIM
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS

***Screening* de Microrganismos Produtores de
Carotenóides e Poligalacturonases**

JAMILE ZENI

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da URI-Campus de Erechim, como requisito parcial à obtenção do Grau de Mestre em Engenharia de Alimentos, Área de Concentração: Engenharia de Alimentos, da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI, Campus de Erechim.

ERECIM, RS - BRASIL

JANEIRO DE 2009

***Screening* de microrganismos produtores de carotenóides e poligalacturonases**

Jamile Zeni

Dissertação de Mestrado submetida à Comissão Julgadora do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Mestre em Engenharia de Alimentos, Área de Concentração: Engenharia de Alimentos.

Comissão Julgadora:

Prof. Geciane Toniazzi, D. Sc.
Orientadora

Prof. Eunice Valduga, D. Sc
Orientadora

Prof. Janaína Fernandes de Medeiros Bukert, D. Sc
FURG

Prof. Débora de Oliveira, D. Sc
URI – Campus de Erechim

Erechim, 27 de Janeiro de 2009.

Dedicatória

A minha mãe e ao meu pai,
Leila e Ilário Zeni,
pelo amor e exemplo de vida
Obrigada por me ensinarem a nunca
desistir.
A minha irmã Camila, por ser tão
especial para mim.
Amo vocês!!!!!!

“Nunca deixe de fazer algo de bom que
seu coração lhe pede. O tempo poderá
passar e a oportunidade também.”

“Riscos”

Rir é correr risco de parecer tolo.

Chorar é correr o risco de parecer sentimental.

Estender a mão é correr o risco de se envolver.

Expor seus sentimentos é correr o risco de mostrar
seu verdadeiro eu.

Defender seus sonhos e idéias diante da multidão é
correr o risco de perder as pessoas.

Amar é correr o risco de não ser correspondido.

Viver é correr o risco de morrer.

Confiar é correr o risco de se decepcionar.

Tentar é correr o risco de fracassar.

Mas os riscos devem ser corridos,
porque o maior perigo é não arriscar nada.

Há pessoas que não correm nenhum risco,
não fazem nada, não têm nada e não são nada.

Elas podem até evitar sofrimentos e decepções, mas
elas não conseguem nada,

não sentem nada, não mudam, não crescem,
não amam, não vivem.

Acorrentadas por suas atitudes, elas viram escravas,
privam-se de sua liberdade.

Somente a pessoa que corre riscos é livre!!!!

AGRADECIMENTOS

A Deus.

Aos meus pais pelo amor, carinho, apoio, confiança e incentivo para a realização deste trabalho.

À minha irmã Camila pelo amor.

Às minhas orientadoras Eunice Valduga e Geciane Toniazzi pela orientação, apoio e tranquilidade transmitidos em todos os momentos.

Ao Professor Rogério L. Cansian pelo apoio na etapa de análise de RAPD.

Aos colegas de trabalho Lídia, Rosicler e Karine pela ajuda em todos os momentos, tornando o trabalho de pesquisa mais agradável e divertido.

Aos amigos e colegas do Laboratório, Daniela (Peke), Roger, Daiane, Lindomar, Ieda e Laura pelo companheirismo e pelos momentos de descontração.

Aos meus amigos e colegas Daiane e Roger pelo apoio e pela amizade nos momentos difíceis.

A todos os funcionários e professores do Curso de Engenharia de Alimentos da URI– Campus de Erechim, que de alguma forma contribuíram para a minha formação e realização deste trabalho.

A todas as outras pessoas que fizeram parte de minha vida até o fim desta jornada.

Resumo da Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos como parte dos requisitos necessários para a obtenção do Grau de Mestre em Engenharia de Alimentos.

SCREENING DE MICRORGANISMOS PRODUTORES DE CAROTENÓIDES E POLIGALACTURONASES

Jamile Zeni

Janeiro/2009

Orientadoras: Geciane Toniazzo e Eunice Valduga.

O objetivo do presente estudo foi o realizar *screening* de microrganismos visando a bioprodução de carotenóides e enzimas pectinolíticas, especificamente poligalacturonases (PG). Os microrganismos foram isolados de amostras de resíduos agroindustriais, laranja, mamão, pêssego, melão, goiaba, banana, solo, farinha de trigo e de produtos processados em decomposição. A bioprodução de carotenóides foi realizada em frascos agitados, contendo 100 mL de meio (40 g/L de glicose, 10 g/L de extrato de malte e 14 g/L de peptona), 180 rpm, 25 °C por 100 horas. Na bioprodução de PG foram utilizados os mesmos microrganismos isolados e utilizados para a produção de carotenóides, além das linhagens identificadas como *Penicillium camembertii* (CT) ATCC 4845, *Aspergillus niger* ATCC 16404, *Aspergillus niger*, *Aspergillus niger* ATCC 1004, *Aspergillus niger* ATCC 9642, *Penicillium notatum* ATCC 9478, *Penicillium duclauxii* ATCC 9121, *Penicillium citrinum* ATCC 28752, *Penicillium digitatum* ATCC 26821, *Aspergillus oryzae* ATCC 1003, *P. variotii* ATCC 22319, *Pseudomonas putida*, *Sporidiobolus salmonicolor* CBS 2636, *Candida* sp ATCC 34147 *Hansenula* sp. A técnica de RAPD foi utilizada como ferramenta para identificação dos microrganismos isolados. No *screening* foram isolados e selecionados 116 microrganismos, 16 leveduras, 65 bactérias e 35 fungos filamentosos. Os microrganismos W8, K1 e B7 demonstraram grande potencial para a produção de carotenóides de pigmentação predominantemente rósea com teor de carotenóides totais 818, 707 e 730 µg/L respectivamente. Entretanto, os microrganismos W1, Q3 e B3 de pigmentação predominantemente amarela foram os grandes produtores com teores que variaram de 1063 a 2563 µg/L. Na produção de poligalacturonases foram utilizados 93 microrganismos dos isolados e selecionados para a produção de carotenóides, destes 68 eram fungos filamentosos e 16 bactérias. As linhagens *P. simplicissimum*, *A. niger* ATCC 16404, *A. niger* ATCC 1004, *A. niger* ATCC 9642, *Pseudomonas putida* e os microrganismos isolados W12, D2, H8, L1, K3, W35, W43, W44, W52, W23, W24, H9, W18, L4 e T2 apresentaram unidades de atividades de PG superiores a 3 U/mL. Após o estudo cinético da bioprodução de poligalacturonases obteve-se um aumento de até 13 vezes na atividade enzimática, sendo que o microrganismo identificado como W43 apresentou a maior atividade (45 U/mL). Com a análise de RAPD foi possível concluir que os microrganismos isolados para a produção de pigmentos e enzimas pectinolíticas são de espécies ou até gêneros diferentes não apresentando duplicação de cepas.

Palavras-Chave: *Screening*, microrganismos, carotenóides, poligalacturonases, RAPD.

Abstract of Dissertation presented to Food Engineering Program as a partial fulfillment of the requirements for the Degree of Master in Food Engineering

SCREENING OF MICROORGANISMS FOR CAROTENOIDS AND POLYGALACTURONASES PRODUCTION

Jamile Zeni

Janeiro/2009

Advisors: Geciane Toniazzo e Eunice Valduga.

The objective of this study was the screening of microorganisms aimed at bioproduction of carotenoids and pectinolytic enzymes, specifically polygalacturonases (PG). The microorganisms were isolated from samples of waste agroindustrials, orange, papaya, peach, melon, guava, banana, soil, wheat flour and processed products in decomposition. The bioproduction of carotenoids was carried out in agitated flasks containing 100 mL of medium (40 g/L of glucose, 10 g/L malt extract and 14 g/L peptone), 180 rpm, 25 ° C for 100 hours. The production of PG used the same microorganisms isolated and used for the production of carotenoids, in addition to the strains identified as *P. camembertii* (CT) ATCC 4845, *A. niger* ATCC 16404, *A. niger*, *A. niger* ATCC 1004, *A. niger* ATCC 9642, *P. notatum* ATCC 9478, *P. duclauxii* ATCC 9121, *P. citrinum* ATCC 28752, *P. digitatum* ATCC 26821, *A. oryzae* ATCC 1003, *P. variotii* ATCC 22319, *P. putida*, *S. salmonicolor* CBS 2636, *Candida* sp ATCC 34147 and *Hansenula* sp.

With the objective to verify possible duplication of strains the technique of RAPD was used. In the screening a total of 116 microorganisms: 16 yeasts, 65 bacteria and 35 fungi. The microorganisms W8, K1 and B7 demonstrated great potential to produce carotenoids of pigmentation red containing carotenoids total of 818, 707 and 730 µg/L, respectively. And the microorganisms W1, Q3 and B3 presented a potential of producing carotenoids of pigmentation predominantly yellow were the major producers with content ranging from 1063 to 2563 µg/L. In the production of polygalacturonases used 93 microorganisms were isolated and selected for production of carotenoids, these are 68 fungi and 16 bacteria. The strains *P. simplicissimum*, *A. niger* ATCC 16404, *A. niger* ATCC 1004, *A. niger* ATCC 9642, *Pseudomonas putida* and microorganisms isolated and coded by W12, D2, H8, L1, K3, W35, W43, W44, W52, W23, W24, H9, W18, L4 e T2 presented had units of PG activity of more than 3 U/mL. After the study of kinetic bioproduction of polygalacturonases activity an increase up to 13 times the activity of PG, and the microorganisms identified as W43 showed activity of 45 U/mL. The analysis of RAPD permitted to conclude that the isolated microorganisms are of different species or genera.

Keywords: Screening, microorganisms, carotenoids, polygalacturonases, RAPD.