

.....

PRODUÇÃO DE ENZIMAS DE VALOR COMERCIAL A PARTIR DE BIOMASSA LIGNOLÍTICA RESIDUAL DE PALMITO REAL

Gabriela Marinho Perito¹⁷; Esp. Rodrigo Batista Souza¹⁸; MSc. Alessandro de Oliveira Limas (orientador)¹⁹

INTRODUÇÃO

O processo de industrialização do palmito gera inúmeros resíduos que, atualmente, não são reaproveitados. O Brasil é o primeiro produtor mundial de palmito. Com produção estimada em 180 mil toneladas anuais, em 2004, esta atividade industrial gerou, para cada 300 kg de conserva de palmito embalados, 350 kg de resíduo de bainha mediana, ou seja, 210 mil toneladas por ano (ISRAEL, 2005).

Nos últimos anos, uma maior conscientização ambiental da população brasileira impulsionou o aproveitamento de resíduos industriais. Vários processos biotecnológicos, a partir de resíduos lignocelulósicos, foram desenvolvidos para a produção de álcool, enzimas (celulases), ácidos orgânicos e aminoácidos, gerando produtos de grande valor econômico. De acordo com Salles *et al.* (2010), as celulases obtidas por fungos são muito utilizadas pelas indústrias de alimentos, fármacos, papel, têxtil, dentre outras.

Considerando o desenvolvimento da biotecnologia no campo de reaproveitamento de resíduos agroindustriais, o processo fermentativo da biomassa lignolítica residual está cada vez mais sendo adotado para a produção de bioprodutos de alto valor agregado, como por exemplo, as enzimas de aplicação industrial, o que levou ao estudo do aproveitamento dos resíduos de bainha mediana derivados da industrialização do palmito.

Palavras-chave: Resíduos lignocelulósicos. Fermentação. Celulases.

OBJETIVO

O presente trabalho teve como objetivo produzir enzimas de valor comercial a partir de biomassa lignolítica residual (bainha mediana) proveniente da industrialização de palmito em conserva. Este resíduo foi utilizado como substrato fermentativo para o crescimento de fungos celulolíticos para a produção de celulases.

MÉTODO

Para a produção de enzimas a partir da biomassa lignolítica residual (bainha mediana), proveniente do palmito, foram cultivados os fungos *Aspergillus terreus* em meio PDA (Potato Dextrose Agar), segundo Ahmed (2007). Foram utilizadas três diferentes composições para os meios em solução aquosa para o processo fermentativo a 30°C com o inóculo *A. terreus*: (A) 5,0 g de farelo de bainha mediana de palmito; (B) 2,5 g de farelo de bainha mediana de palmito mais 2,5 g de farelo de arroz; (C) 5,0 g de farinha de arroz.

Determinou-se a atividade enzimática da celulase, como medida da produção de enzimas, presente na farinha da bainha mediana do palmito e do farelo de arroz por dois métodos

¹⁷ Acadêmica de Engenharia Química da Unisul. Bolsista do PUIC. E-mail: gabiperito@hotmail.com

¹⁸ Professor do Curso de Farmácia da Unisul. Coordenador do LDS-Unisul. E-mail: rodrigo.souza@unisul.br

¹⁹ Professor em Engenharia Bioquímica do Curso de Engenharia Química da Unisul. Mestre em Engenharia de Alimentos (UFSC). E-mail: alessandro.limas@unisul.br



(primeiro: DNS – reagente ácido 3,5-dinitrosalicílico; segundo: padrão de glicose), segundo Menezes *et al.* (2009) e Ruegger & Tornisielo (2004).

Num tubo de ensaio adicionou-se 50 mg de carboximetilcelulose e 4,9 mL de solução tampão de acetato de sódio 50 mM em pH 5,0. Aqueceu-se em banho-maria, a 50°C, por 5 minutos. Adicionou-se 0,1 mL do filtrado e transferiu-se 1,0 mL para outro tubo de ensaio, contendo 1,0 mL de reagente de Sumner (ácido 3,5 dinitro salicílico: 10,0 g.L⁻¹; NaOH: 16,0 g.L⁻¹; tartarato duplo de sódio e potássio: 300,0 g.L⁻¹). Alíquotas de 10 µL foram retiradas no tempo 0, 30 e 60 minutos e adicionadas em outro tubo de ensaio, contendo 1,0 mL de reagente DNS para verificação de glicose. Os tubos foram aquecidos em banho-maria, a 37°C, por 10 minutos. Por fim, as leituras das absorbâncias foram feitas em espectrofotômetro UV/VIS a 505 nm. Os resultados obtidos destas leituras foram comparados com os resultados obtidos pelo método espectrofotométrico para análise de glicose (padrão).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

A Tabela 1 apresenta a quantidade de glicose produzida durante o experimento pelo primeiro método utilizado (DNS). Os valores apresentados na Tabela 1 correspondem à quantidade de glicose presente nas amostras nos tempos 0, 30 e 60 minutos.

Tabela 1 – Quantidade de glicose produzida pela fermentação utilizando o primeiro método (DNS).

Tempo (minutos)	Palmito ^(A) (g/L)	Farelo de Arroz ^(B) (g/L)	(Palmito + Farelo de Arroz) ^(C) (g/L)
0	0,05	0,04	0,05
30	0,08	0,06	0,07
60	0,10	0,08	0,09

Fonte: Elaboração do autor, 2012.

Os valores apresentados na Tabela 2 correspondem à quantidade de glicose presente nas amostras, de acordo com o segundo método utilizado (padrão de glicose).

Tabela 2 – Quantidade de glicose produzida pela fermentação utilizando o segundo método (padrão de glicose).

Palmito ^(A) (g/L)	Farelo de arroz ^(B) (g/L)	(Palmito + Farelo de arroz) ^(C) (g/L)
0,77	0,43	0,53

Fonte: Elaboração do autor, 2012.

O aumento da produção de glicose, ao longo do tempo, pelo método do DNS foi identificado nas três medidas realizadas. Este aumento de glicose comprova que o *A. terreus* produziu celulasas continuamente, convertendo os meios preparados de resíduos ricos em celulose em glicose. Por outro lado, a produção de glicose, em g/L, para cada meio fermentativo pelo segundo método, após 60 minutos, foi, em média, 6 vezes maior do que no primeiro método (0,77^(A), 0,43^(B), 0,53^(C), respectivamente).

Ruegger & Tornisielo (2004) obtiveram uma atividade enzimática utilizando farelo de trigo e fungos do gênero *Aspergillus niger* de 0,018 µmol/mL.min, o que resulta em valores próximos aos obtidos pelo primeiro método aqui utilizado, convertendo para a unidade em gramas por Litro, sendo aproximadamente 0,80 g/L de glicose pelo tempo determinado.

Os meios que utilizam apenas farelo de arroz geram pouca quantidade de enzimas do tipo celulase (SILVA, 2008). As amostras analisadas que demonstraram menor quantidade de



glicose produzida em ambos os métodos aplicados foram nos meios que continham apenas farelo de arroz.

Para avaliar a produtividade de enzimas celulasas necessita-se determinar a atividade enzimática para o meio (bainha mediana de palmito) em pelo menos 96 horas de fermentação. Desta forma, segundo Silva (2008), consegue-se determinar a atividade de celulasas totais e a produtividade das mesmas a partir do *Aspergillus terreus* e compará-la com outros gêneros e espécies de fungos celulolíticos.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos para o meio preparado somente com a bainha mediana do palmito indicaram maior atividade enzimática, comparado ao farelo de arroz, tanto para o método de DNS, como ao da solução padrão de glicose. A medida da atividade enzimática foi considerada como indicador de produção de enzimas ao longo da fermentação. Pelo método DNS foram obtidos resultados (atividade enzimática) próximos ao da literatura (0,018 $\mu\text{mol/mL}\cdot\text{min}$).

A utilização do *Aspergillus terreus* é segura, já que este é um fungo que raramente causa complicações à saúde humana. Além disso, neste trabalho, este gênero de fungo mostrou-se eficaz na produção de celulasas, de acordo com as atividades enzimáticas obtidas.

Foi identificada a necessidade de determinar estatisticamente a produtividade de celulasas totais a partir de fungos celulolíticos, utilizando como meio fermentativo a bainha mediana de palmito.

REFERÊNCIAS

AHMED, E.M. **Production of 11 α -hydroxyprogesterone using *Aspergillus terreus* immobilized on polytetrafluoroethylene.** Braz. J. Microbiol. v.38 n.2 São Paulo abr./jun. 2007.

ISRAEL, C. M. **Utilização do Resíduo do Processamento do Palmito para a Produção de Enzimas Hidrolíticas por Fungos do Gênero *Polyporus*.** Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre ao Curso de Mestrado em Engenharia Ambiental, Centro de Ciências Tecnológicas, da Universidade Regional de Blumenau – FURB. 2005.

MENEZES, Cristiano Ragagnin. SILVA. Isis. DURRANT Lucia Regina. **Bagaço de cana: fonte para produção de enzimas ligninocelulolíticas.** Estudos tecnológicos. Campinas. Vol. 5. 1:68 – 78. Jan/Abr 2009.

RUEGGER, Marcelo e TORNISIELO, Sâmia. **Atividade da celulase de fungos isolados do solo da Estação Ecológica de Juréia-Itatins, São Paulo, Brasil.** Revista Brasil. Bot., V.27, n.2, p.205-211, abr.-jun. 2004.

SALLES, Marília Ribeiro Sales, *et al.* Variáveis que influenciam a produção de celulasas e xilanase por espécies de *Aspergillus*. **Pesquisa agropecuária brasileira.** Brasília. Vol. 45. 11 : 1290 – 1296. Nov. 2010.



.....

SILVA, Lucas. **Produção e caracterização de enzimas celulásicas por *Aspergillus phoenicis***. Dissertação de Mestrado em microbiologia agrícola e do ambiente. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2008.

FOMENTO

O trabalho teve a concessão de Bolsa pelo Programa UNISUL de Iniciação Científica (PUIC). Teve o apoio técnico da Coordenação dos Laboratórios Didáticos da Saúde (UNISUL) e do Centro Tecnológico (CENTEC - UNISUL) e a cessão gratuita das cepas do *Aspergillus terreus* pela Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

