

Valorização da biomassa da casca da amendoa de cacau: cinética da produção de compostos de interesse industrial

Ícaro Bastos Silva¹, Iasnaia Maria de Carvalho², Nívio Batista³, Marcelo Franco⁴

Resumo: A fermentação em estado sólido (FES) é uma técnica de cultivo de um microrganismo sobre um substrato sólido (resíduo), contendo umidade suficiente apenas para manter o crescimento e metabolismo do microrganismo. Em outras palavras, a FES é o crescimento de microrganismos em material sólido onde há inexistência ou quase inexistência de água. O fungo filamentososo do gênero *Aspergillus* são os mais promissores na produção de biocompostos, uma vez que além de incrementar o teor protéico, teor de compostos bioativos, este fungo pode excretar cerca de 20 tipos diferentes de enzimas. Diante disso foi realizada a cinética da produção de endoglucanase de *Aspergillus niger* utilizando como substrato a casca da amendoa de cacau, durante quinze dias. As fermentações foram realizadas em erlenmeyer de 250 mL contendo 5g, sendo analisada a atividade enzimática a cada 24 horas por 15 dias. A atividade enzimática endoglucanase foi determinada através da quantificação de açúcares redutores presentes nos ensaios utilizando o método do DNS (ácido dinitrosalicílico). A melhor condição de fermentação para produção da enzima foi de 168 horas obtendo uma atividade enzimática de 0,130 U/mL. Através dos resultados obtidos podemos concluir que a fermentação em estado sólido é uma alternativa para agregar valores a resíduos industriais. Esses tipos de fermentações permitem ser aplicados para produção de enzimas que são de alto valor industrial e que ainda podem ser utilizados como meio alternativo.

Palavras Chaves: Fermentação em estado sólido, cacau, endoglucanase

Title: Abstract: Solid state fermentation (FES) is a technique for cultivating a microorganism on a solid substrate (waste), containing just enough moisture to maintain the growth and metabolism of the microorganism. In other words, FES is the growth of microorganisms on solid material where there is no water or almost no water (PANDEY et al., 2000). Filamentous fungi of the genus *Aspergillus* are the most promising in the production of biocompounds, as in addition to increasing protein content, this fungus can excrete around 20 different types of enzymes (SILVEIRA et al., 2007). 250 mL Erlenmeyer flask contains 5g of cocoa bran waste. Following the plan, the fermentations were incubated ranging from 24 hours to 15 days. The activity of the endoglucanase enzyme was determined by quantifying the reducing sugars present in our tests using the DNS method (dinitrosalic acid). The best fermentation condition for enzyme production was 168 hours, obtaining an enzyme activity of 0.130 U/mL. Through the results obtained we can conclude that solid state fermentation is an alternative to added values and industrial waste. These types of fermentation can be used to produce enzymes of high industrial value and can also be used as an alternative means of obtaining profits.

Keywords: Solid state fermentation, cocoa, endoglucanase

¹Graduando em Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Estrada Itapetinga/Itambé, s/n, Itapetinga-BA, 45700-000, icarobastos9@gmail.com

²Pós Doutorado, Engenharia e Ciência de Alimentos da Universidade Estadual Paulista – UNESP, Estrada Itapetinga/Itambé, s/n, Itapetinga-BA, 45700-000, iasnaiamct@gmail.com

³Professor Dr. do curso de Engenharia de alimentos⁵, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Estrada Itapetinga/Itambé, s/n, Itapetinga-BA, 45700-000, nivio@uesb.edu.br

Introdução: A produção de resíduos agroindustriais é um desafio global enfrentado por todas as áreas do sistema de fabricação em larga escala. Desde o início do século XX, com o crescimento rápido, tem-se promovido o desenvolvimento de consciência social que busque equilibrar a fabricação de produtos com a mínima geração de resíduos possível. Calcula-se que 931 milhões de toneladas de alimentos, ou 17% do total de alimentos disponíveis para os consumidores em 2019, foram desperdiçados em residências, no varejo, em restaurantes e em outros serviços de alimentação (FAO, 2021). A fermentação em condições sólidas (FES) é uma técnica de cultivo de um microrganismo em um substrato sólido (resíduo), que contém a quantidade de umidade necessária apenas para sustentar o crescimento e o metabolismo do microrganismo. Em outras palavras, a FES é o crescimento de microrganismos em material sólido onde há ausência ou quase ausência de água (PANDEY et al., 2000). Os fungos do gênero *Aspergillus* são os mais promissores na produção de bioprodutos, uma vez que, além de aumentar o teor de proteína, este fungo pode secretar cerca de 20 tipos distintos de enzimas (SILVEIRA et al., 2007). Os fungos do gênero *Aspergillus* têm grande importância econômica, sendo empregados em diversas fermentações, incluindo a fabricação de ácido cítrico, além de serem os microrganismos mais utilizados na produção de enzimas (ROBINSON; NIGAM, 2003; MINAFRA et al., 2010). A endo- β -1,4-glucanase, também conhecida como endoglucanase, é uma enzima que pode ser utilizada para metabolizar vários processos. Esse produto enzimático de alto valor industrial pode ser obtido através do metabolismo secundário do *Aspergillus*. Sua aplicação se estende em uma gama de áreas industriais como melhoramento de ração animal, produção de biocombustível, indústria têxtil, entre outras (MORAES, 2018). O objetivo deste trabalho foi avaliar a cinética da produção de endoglucanase do fungo *Aspergillus niger* por fermentação em estado sólido utilizando o resíduo farelo de cacau como substrato.

Materiais e métodos:

Microrganismo e condições de cultura: O microrganismo investigado no estudo foi o fungo filamentosso *Aspergillus Niger*, que faz parte do LABIOCAT (Laboratório de Transformação Biológica e Biocatálise Orgânica), situado na Universidade Estadual de Santa Cruz. Foi submetido a um período de incubação de cinco dias a uma temperatura de 28 °C e, em seguida, armazenado em uma geladeira a 4 °C por até 30 dias.

Preparo do substrato: O resíduo de cacau foi cedido por empresas agroindustriais localizadas na área sul da Bahia. O material foi desidratado à temperatura ambiente e reduzido a um tamanho de 2,0 mm de diâmetro através da trituração em um moinho do tipo Wiley.

Fermentação em estado sólido (FES) e solução de esporos: As fermentações foram realizadas em erlenmeyer de 250 mL contendo 5g do resíduo de farelo de cacau. Seguindo o planejamento, foi aplicado um volume de água estéril para se alcançar a umidade ótima do resíduo no experimento de 70%. Posteriormente, as fermentações foram incubadas variando 24 horas por 15 dias. Logo após, foi coletada a solução de esporos com água esteril para obtenção do extrato enzimático.

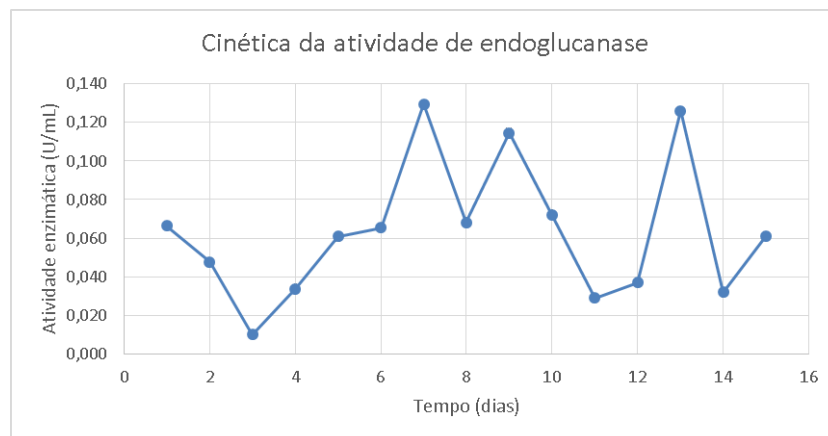
Extração enzimática: Os extratos enzimáticos foram obtidos com a adição de 50 mL de água destilada estéril em cada um dos ensaios fermentados, onde essa suspensão foi agitada em um shaker. Logo após, refrigerado e armazenado a uma temperatura de 4 °C por até 30 dias.

Atividade enzimática da endoglucanase: A atividade da enzima endoglucanase (endo

-1,4- β -D-glucanase) foi avaliada por uma solução de reação, composta por 100 μ L de extrato bruto da enzima purificada, 100 μ L de uma solução de Carboximetilcelulose (CMC) a 1%, e 100 μ L de tampão de acetato de sódio (0,1 M, pH 5). Essa mistura foi incubada a 50°C por 10 minutos, seguida pela adição de 200 μ L de ácido 3,5-dinitrossalicílico, posteriormente incubada novamente a 100°C por 5 minutos, por fim, adição de 2 mL de água destilada e medida. A atividade foi determinada pela leitura da absorbância em espectrofotômetro a 540 nm dos extratos enzimáticos juntamente com a solução em branco .

Resultados:

Através do gráfico 1 pode-se relacionar respostas experimentais relacionando a variável tempo obtendo a melhor condição de produção enzimática. Os resultados foram tabelados e o melhor tempo que gerou uma maior atividade enzimática foi o de 168 horas, 7 dias. Obtendo uma atividade enzimática de 0,130 U/ mL.



Foi realizada uma atividade cinética de atividade enzimática, onde foi realizada durante quinze dias com o objetivo de avaliar a produção da enzima endoglucanase. A variação da atividade enzimática em função do tempo encontrado na tabela 1 produzidos pelo *A.Nigger* pode ser pelo fato do microorganismo não ser afetado por baixos valores de atividade de água , níveis de nutrientes e temperatura segundo PALÁCIOS-CABRERA et al. (2005).c

Segundo DEL BIANCHI et al (2011) o controle de umidade, temperatura e o pH do meio, além das características do substrato são as variáveis analisadas com maior frequência quando se trata de FES . Com isto, pode-se compreender que o microorganismo irá inicialmente adaptar-se ao meio produzindo enzimas para degradar celulose e alimentar-se, posteriormente com a sucessão dos dias esse substrato vai diminuindo, o que diminui a atividade enzimática também do fungo devido a biodisponibilidade dos recursos no meio.

Portanto, através do trabalho desenvolvido pode-se compreender o tempo necessário para produção de endoglucanase, aplicando em resíduos industriais de cacau. O valor agregado para fins industriais pode e deve ser amplamente discutido como alternativa para tratamento e enriquecimento de resíduos.

Conclusão: O tempo necessário para produção da endoglucanase por *A. Niger* utilizando como substrato a casca da amêndoa de cacau foi de 168 horas obtendo uma atividade média de 0,130 U/mL. A partir desse tempo de fermentação o valor da atividade da endoglucanase diminui, não sendo necessário um tempo extenso para a produção desta enzima. Os resultados evidenciaram que é possível agregar valor a resíduos agroindustriais, obtendo a partir dele um produto de importância para áreas industriais.

Referências Bibliográficas:

- MORAES, A, *et al* 2018. **Revista Mundial de Microbiologia e Biotecnologia**, v. 6, 2018.
- IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Indicadores agropecuaria**. 2015.
- DEL BIANCHI, V. L.; MORAES, I. O.; CAPALBO, D. M. F. **Fermentação em estado sólido. In: Schmidell W. Biotecnologia industrial: Engenharia Bioquímica**. 1. ed. Vol. 2. São Paulo: Edgard Blücher LTDA, 2011
- SANTOS, T.C.; GOMES, D.P.P.; FRANCO, M. **Enriquecimento Proteico dos Resíduos Sólidos do Processamento de Frutas**. Enciclopédia Biosfera, Goiania, v. 6, n. 11, p. 1-7, 2010.
- PALACIOS-CABRERA, H.; TANIWAKI, M. H.; HASHIMOTO, J. M.; MENEZES, H. C. Growth of *Aspergillus ochraceus*, *A. carbonarius* and *A. niger* on culture media at different water activities and temperatures. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 36, n.1, p. 24-28, 2005.
- PANDEY, A.; SOCCOL, C. R.; MITCHELL, D. **New developments in solid state fermentation: I-bioprocesses and products**. *Process Biochemistry*. v. 35. p. 1153- 1169. 2000.
- ROBINSON, T.; NIGAM, P. **Bioreactor design for protein enrichment of agricultural residue by solid state fermentation**. *Biochemical Engineering Journal*, Amsterdam, v. 13, n. 2/3, p. 197-203, 2003.