

PRODUÇÃO DE ENZIMAS POR COGUMELO COMESTÍVEL A PARTIR DE RESÍDUOS DA AGROINDÚSTRIA.

Camila O. Bezerra¹, Geni A. Casteliano¹, José Cleub Silva Santos Júnior², Ana Paula T. Uetanabaro¹, Andréa M. da Costa^{1*}

1. Departamento de Ciências Biológicas/UESC

2. Programa de Pós-graduação em Química/UESB

*Orientadora

Resumo

Anualmente toneladas de resíduos são produzidas no processamento de produtos agrícolas causando significativo impacto ambiental. Na região sul da Bahia, a exploração e comercialização do palmito da pupunha, da polpa de cacau e da amêndoa de cacau são as principais práticas que contribuem para essa circunstância. Em decorrência disto, buscam-se medidas para a utilização desses resíduos cuja composição é rica em açúcares e fibras. A partir disto, a produção de cogumelos comestíveis em resíduos cresce exponencialmente. Além de apresentar um rico caráter nutricional, os cogumelos tem apresentado potencial biotecnológico para produção de enzimas de interesse industrial. Com isso, o objetivo deste trabalho foi avaliar o perfil de produção enzimática pelo cogumelo comestível *Pleurotus pulmonarius* em resíduo de cacau e pupunha com adição de película da amêndoa de cacau através de métodos de baixo custo como a fermentação sólida.

Palavras-chave: *Pleurotus pulmonarius*; Fermentação sólida; Potencial biotecnológico.

Apoio financeiro: CNPq, FAPESB.

Trabalho selecionado para a JNIC: UESC

Introdução

Durante fases de processamento em agroindústrias, milhares de toneladas de resíduos são produzidos durante o ano. Muitas vezes não há destinação adequada para estes resíduos. O cacau (*Theobroma cacao* L), típico de florestas tropicais, é um dos principais frutos cultivados na Região Sul da Bahia por isso a exploração intensa do fruto acaba gerando grande quantidade de resíduos tendo em vista que 80% do fruto correspondem a casca. Análises químicas da casca do fruto demonstraram valores correspondentes a 1,20% de N; 1,10% de P; 3,88% de K; 0,52% de Ca e 0,36% de Mg em sua composição, identificando-o como rico em elementos nutritivos (MORORÓ, 2012). Nas fases finais do processamento, há separação da casca da amêndoa e do nibs gerando ainda mais resíduos. Já a pupunheira, *Bactris gasipaes* Kunth é uma palmeira multicaule nativa dos trópicos úmidos da Amazônia que produz frutos para consumo humano e animal, além da produção caulinar de palmito (MORO, 1996). A cada 400g de palmito extraídos estima-se que 13kg de resíduo sejam produzidos (FERMINO, 2010). Tendo em vista a composição desses resíduos, uma das alternativas para o reaproveitamento é o uso desse resíduo como substrato para produção de enzimas de alto valor agregado por cogumelos comestíveis, gerando assim dois produtos representativos economicamente (MANDEEL, 2005). As lacases de *Pleurotus* sp., por exemplo, vêm desempenhando um papel significativo na degradação de resíduos de corantes produzidos pela indústria têxtil (ORZECOWSKI, 2018). A partir disso, o objetivo do trabalho foi avaliar a produção de enzimas hidrolíticas e oxidativas por *Pleurotus pulmonarius*, conhecido como cogumelo ostra indiano, através da fermentação sólida em resíduos de casca de cacau (CAC) e pupunha (PUP) com adição ou não de película da amêndoa do cacau (PEL).

Metodologia

Para desenvolvimento do objetivo proposto seguiram-se os seguintes métodos:

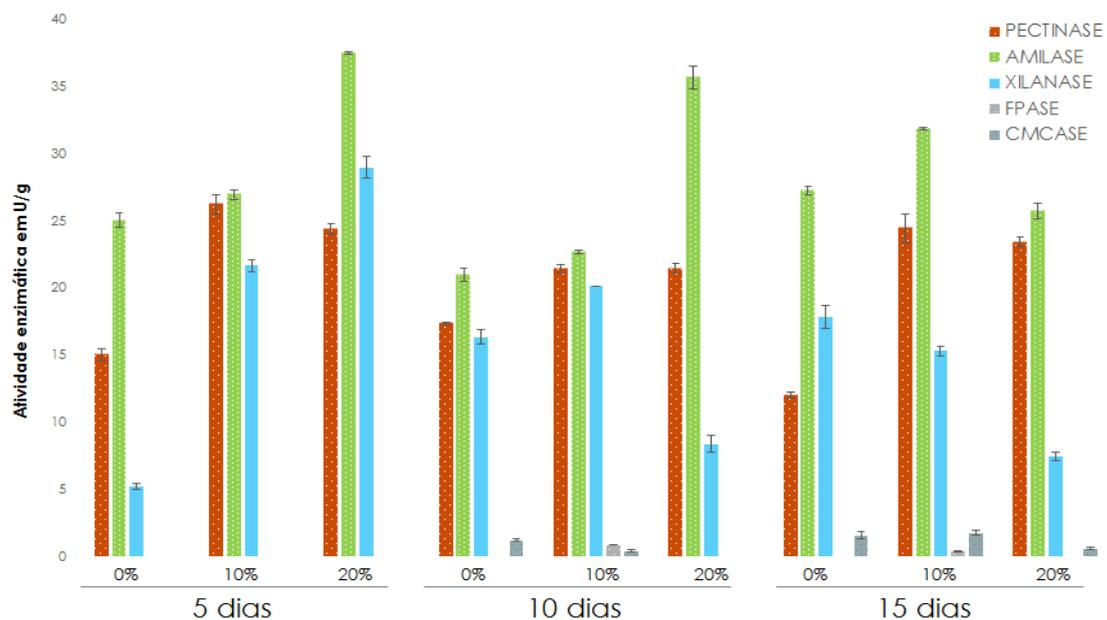
- 1- Cultivo e manutenção do micro-organismo: O fungo *Pleurotus pulmonarius* foi cultivado em placa de petri com meio BDA (batata dextrose ágar) a 26°C por 8 dias em BOD (Câmara de Demanda Bioquímica de Oxigênio).

- 2- Fermentação em estado sólido: A fermentação foi realizada em frascos erlenmeyers de 125mL, adicionou-se 4g (PUP) ou 6g (CAC) de resíduo triturado e desidratado, 22mL do água de torneira para obtenção de umidade final em torno de 80% e após esterilização foram adicionados 4 plugs de micélio de 8mm do microrganismo crescido em BDA. Variou-se concentrações de PEL em 0, 10 e 20%, adicionados ao meio fermentativo de acordo com o peso do resíduo utilizado. Os frascos foram incubados a 28°C em BOD por intervalos de 5, 10 e 15 dias sem agitação no escuro. Após o determinado período de tempo 20mL (PUP) ou 24 mL (CAC) de água destilada estéril foram adicionadas aos frascos que foram posteriormente submetidos a agitação de 150 RPM por 20 minutos a 25°C. A extração foi realizada por filtração a vácuo. Os extratos foram centrifugados a 10.000 g por 10 minutos a 4°C. O sobrenadante foi armazenado e utilizado como extrato bruto enzimático.
- 3- Dosagem da atividade enzimática: A atividade enzimática das enzimas hidrolíticas foi mensurada mediante a produção de açúcares redutores segundo Miller (1959) com adaptações utilizando como substrato papel filtro Whatman nº1 de 0,5 cm por 3 cm para FPase, carboximetilcelulose sódica (CMC) para CMCase, amido para amilase, pectina cítrica para pectinase e xilano para xilanase, todos a 1%. A unidade enzimática foi estabelecida como a quantidade de enzima necessária para liberar 1µmol de glicose e foi expressa como unidade por grama de substrato seco (U/gss). A atividade enzimática das enzimas oxidativas foi mensurada segundo Pelaéz (1995) com adaptações utilizando ABTS a 10 mM como substrato para lacase. A unidade enzimática foi estabelecida como a quantidade de enzima necessária para oxidar 1µmol de ABTS e foi expressa como unidade por litro.

Resultados e Discussão

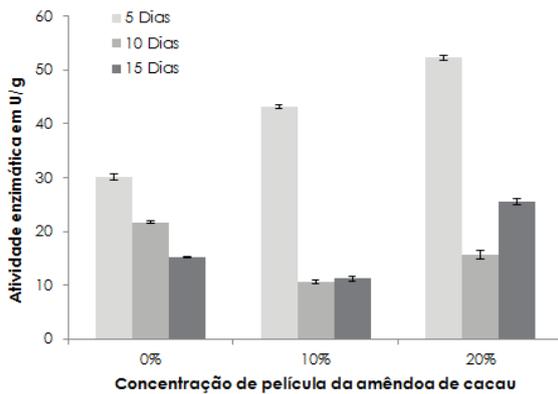
Os resultados obtidos estão apresentados nos gráficos a seguir sendo as atividades enzimáticas das enzimas hidrolíticas em resíduo de pupunha demonstradas no gráfico 1, das enzimas hidrolíticas em resíduo de cacau nos gráficos 2 e 3 e das enzimas oxidativas em no gráfico 4 e 5 em resíduo de pupunha e cacau, respectivamente.

Gráfico 1: Produção de enzimas hidrolíticas em 5, 10 e 15 dias, variando a concentração de película da amêndoa de cacau em 0, 10 e 20% em resíduo de pupunha.



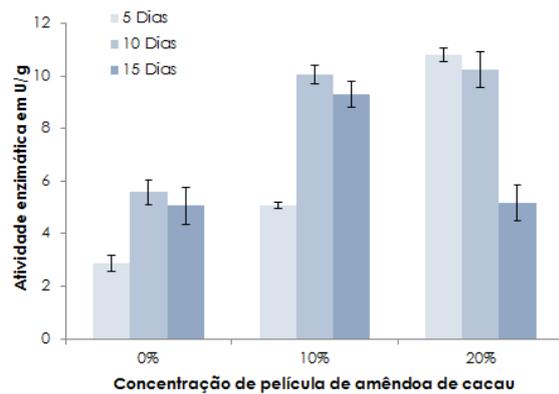
Gráficos 2 e 3: Produção de amilase (2) e pectinase (3) em 5, 10 e 15 dias variando a concentração da película da amêndoa do cacau em 0, 10 e 20% em resíduo de cacau.

2



AMILASE

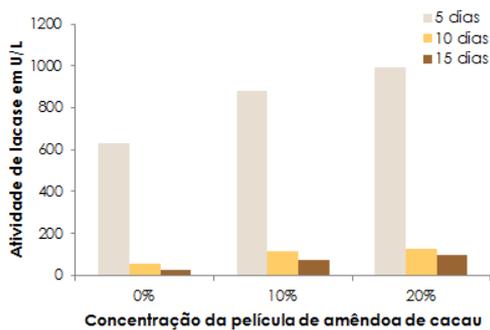
3



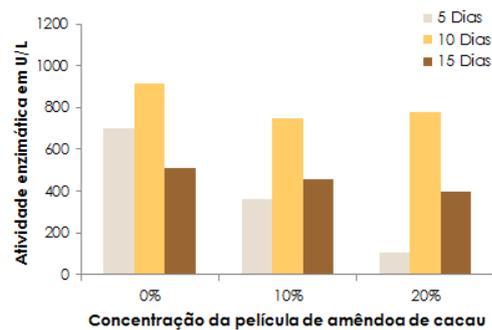
PECTINASE

Gráficos 4 e 5: Produção de enzimas oxidativas (lacases) em 5, 10 e 15 dias, variando a concentração de película da amêndoa de cacau em 0, 10 e 20% em resíduo de pupunha (4) e resíduo de Cacau (5).

4



5



LACASE

Sendo assim, as maiores atividades observadas foram para Amilase em 5 dias com 20% de PEL em casca de cacau – 52,31 U/g , pectinase em 5 dias com 10% em pupunha – 26,21 U/g, xilanase em 5 dias com 20% em pupunha – 29 U/g, CMCase em 15 dias com 10% em pupunha -1,76 U/g (0,352 U/mL), FPase em 10 dias com 10% em pupunha - 0,873 U/g e lacase em 5 dias com 20 % em pupunha- 994,43 U/L.

Devido á produção de celulases apenas em níveis basais em um resíduo rico em celulose (pupunha) optou-se por não avaliar estas enzimas no resíduo de cacau. Valadares e colaboradores em 2013 encontraram atividades de 2,33 U/mL para celulases, também mínimos quando comparados aos grandes produtores como fungos do gênero *Trichoderma*, por exemplo.

Em 2015, utilizando *P. pulmonarius*, Inácio e colaboradores encontraram atividades de 5,5U/g para amilase, 31U/g para pectinase, 3,5U/g para xilanase e 1220 U/L para lacase utilizando bagaço de laranja como substrato da fermentação em aproximadamente 15 dias de cultivo. Para aplicação industrial é importante que o índice de produção enzimática esteja elevado no menor período de tempo possível. Nota-se que a produção enzimática varia de acordo com a composição do resíduo utilizado e com o conjunto de resíduos testado obtivemos atividades consideravelmente altas em apenas 5 dias de cultivo para as enzimas citadas acima.

Conclusões

A produção de diferentes enzimas pelo cogumelo comestível *Pleurotus pulmonarius* utilizando os resíduos regionais de baixo custo, foram eficientes. Demonstrando assim, a potencialidade dos resíduos de cacau e de pupunha para a geração de produtos de maior valor agregado, como as enzimas. É importante ressaltar que através da aplicação da metodologia apresentada utilizou-se os resíduos que seriam descartados, diminuindo assim o impacto ambiental causado e com potencialidade para a geração de renda.

Referências bibliográficas

- MORORÓ, Raimundo Camelo. **Aproveitamento dos subprodutos, derivados e resíduos do cacau.** Anais do III Congresso Brasileiro do Cacau, Ilhéus, Bahia, Brasil, 2012.
- MORO, J.R. **Produção de palmito de pupunha.** Viçosa: Centro de Produções Técnicas, Manual nº 87. P-28, 1996.
- FERMINO, M. et. al. **Aproveitamento dos resíduos da produção de conserva de palmito como substrato para plantas.** Horticultura Brasileira, v. 28, p. 282-286, 2010.
- MANDEEL, Q.A. et al. **Cultivation of oyster mushrooms (*Pleurotus spp.*) on various lignocellulosic wastes.** World Journal of Microbiology & Biotechnology, v.21, p.601-607, 2005.
- ORZECOWSKI, J. et al. **Avaliação do potencial de descoloração e de detoxificação de corantes têxteis por lacase de *Pleurotus sajor-caju*.** Evidência, ciência e biotecnologia, 2018.
- MILLER, G. L. **Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar.** Analytical Chemistry, Washington, v. 31, n.3, p. 426-428, 1959.
- PELAÉZ, F. et al. **Screening of 68 Species of Basidiomycetes for Enzymes Involved in Lignin Degradation.** Mycological Research, 99, 37-42. 1995.
- VALADARES, F. de L. et al. **Produção e uso de enzimas derivadas do fungo *Pleurotus ostreatus* na hidrólise de bagaço de cana pré tratado por processo quimiotermodinâmico.** Dissertação/USP.2013.
- INÁCIO, F. D. et al. **Production of Enzymes and Biotransformation of Orange Waste by Oyster Mushroom, *Pleurotus pulmonarius*.** Advances en microbiology. 2015.