

PRODUÇÃO DE CELULASE A PARTIR DE DO USO DA CASCA DE COCO POR FUNGO DA PODRIDÃO BRANCA

Luana Siebra Andrade (*), Amanda Moraes Araújo, Carlos Ronald Pessoa Wanderley, Renata Silveira, Kelly Rodrigues

* Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará – Campus Maracanaú / luana.siebra@gmail.com

RESUMO

O Brasil é líder mundial na produção de coco verde, com uma área de plantio equivalente a 57 mil hectares. São produzidos cerca de 8,1 bilhões de unidades de coco e este material vem sendo disposto em aterros e lixões, levando de 8 a 12 anos para se decompor. Diante disso, essa pesquisa visou a utilização da casca de coco como fonte de carbono para produção de celulase através do fungo *Phanerochaete chrysosporium*. O experimento foi realizado através de fermentação em estado sólido, utilizando reatores em batelada. Não foi utilizado pré-tratamento da casca de coco e a produção de enzima foi estudada a partir do valor inicial de pH 2,5, além da utilização de reatores controle. Como resultado, observou-se que o micro-organismo respondeu positivamente em relação ao crescimento, apresentando atividade enzimática no 2º dia do tempo reacional, em reatores com fungo (0,055UI/mL) e em reatores controle, a atividade enzimática deu-se com mais intensidade no 1º dia (0,045UI/mL). Estes resultados indicaram que a utilização de fungos para produção de celulase utilizando resíduos agroindustriais pode ser viável, ainda que novos estudos a fim de se obter valores de produção de celulase que sejam competitivos do ponto de vista comercial.

PALAVRAS-CHAVE: celulase, biotecnologia, resíduo agroindustrial

INTRODUÇÃO

O consumo e o processamento de frutas para a produção de sucos resultam em grandes volumes de resíduos que devem ser dispostos de maneira adequada. Estes resíduos são constituídos, em sua grande maioria, por bagaços, sementes e cascas, destacando-se a casca de coco verde (COELHO *et al.*, 2001).

O Brasil é líder mundial na produção de coco verde, com uma área de plantio equivalente a 57 mil hectares. São produzidos cerca de 8,1 bilhões de unidades de coco e este material vem sendo disposto em aterros e lixões, levando de 8 a 12 anos para se decompor (CARRIJO; LIZ; MAKISHIMA, 2002.; VALE, SOARES, CASAGRANDE, 2007).

O crescimento agroindustrial favorece o desenvolvimento econômico, mas contribui também para o aumento de resíduos sólidos, gerando um impacto ambiental e a busca por alternativas de uso e reaproveitamento desses resíduos (PANDEY *et al.*, 2000; LAUFENBERG *et al.*, 2003). Entre os processos desenvolvidos, destacam-se a transformação desses resíduos em compostos químicos e produtos de alto valor como álcool, enzimas, ácidos orgânicos e aminoácidos (COELHO *et al.*, 2001; COUTO & SANROMÁN, 2006).

Uma alternativa para a casca de coco verde é a utilização em processos visando à produção de enzimas. Assim como outros rejeitos agroindustriais, a fibra de coco verde contém uma grande quantidade de compostos como celulose, hemicelulose e pectina que funcionam como indutores na produção de enzimas extracelulares, como a celulase (SENHORAS, 2004).

A indústria de enzimas considera os fungos o mais importante micro-organismo utilizado para sua produção. Entre esses micro-organismos, destacam-se os fungos filamentosos por apresentarem diversas vantagens em função do grande potencial de secreção e produção desse grupo de enzimas (ÖGEL *et al.*, 2001; GOMES *et al.*, 2007).

A produção de enzimas por processos fermentativos é um vasto campo da biotecnologia. Tem-se observado um aumento na tendência do uso da fermentação semi-sólida para produção de algumas enzimas, em especial aquelas envolvidas na degradação de macromoléculas vegetais (COUTO; SANROMÁN, 2005).

OBJETIVO

Verificar a capacidade de produção da enzima celulase pelo fungo *Phanerochaete chrysosporium* utilizando fibra de coco, sem pré-tratamento, como fonte de carbono.

MATERIAIS E MÉTODOS

A casca do coco foi obtida através do processo de trituração, prensagem e seleção, sem a utilização de pré-tratamento. A mesma foi usada como substrato indutor para a produção de celulase.

O fungo utilizado foi o *Phanerochaete chrysosporium*, cujos esporos foram obtidos através da semeadura em placas de Petri esterilizadas, contendo o meio de cultura Agar – Saboraud. As placas inoculadas com fungos permaneceram por 7 dias em estufa bacteriológica à 28°C e, ao final deste período, procedeu-se à remoção dos esporos com solução Tween 80 (10 mL por placa). Foi realizada a contagem de esporos, com auxílio de um microscópio óptico e câmara de Neubauer, para determinação da concentração em esporos/mL.

A fermentação em estado líquido foi realizada em batelada de desmonte, com o valor inicial de pH de 2,5 – ajustado com H₂SO₄ 0,2N – e o grupo controle. Para esse valor inicial de pH, foram utilizados 16 erlenmeyers contendo 5 g de fibra de coco, sem pré-tratamento, e 100mL de meio líquido nutricional para fungos. Para o grupo controle, foi utilizado 8 erlenmeyers contendo a mesma quantidade de fibra de coco e o mesmo líquido nutricional, porém sem a presença do fungo. Todos os ensaios foram realizados em duplicata.

Cada erlenmeyer recebeu suspensão de esporos na concentração de 2×10^6 esporos/mL após esterilização em autoclave a 121°C, durante 20 minutos. O sistema de batelada foi desmontado em tempos reacionais de 0, 12h, 24h, 32h, 72h, 96h, 120h e 144h para verificação da atividade enzimática segundo Ghose (1987) e do pH através do método de potenciometria. A atividade enzimática, através do método da extração, foi realizada de acordo com Zúñiga (2010).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta pesquisa, o fungo *Phanerochaete chrysosporium* demonstrou capacidade de se desenvolver sobre a fibra de coco, desprovida de pré-tratamento, o qual quando utilizado tem finalidade de remover lignina, auxiliando na sua disponibilidade no meio. O cultivo de basidiomicetos em meio líquido, como o *P. chrysosporium*, permite a formação de mais biomassa em menos tempo e favorece a dispersão do fungo, sua adaptação, além de ser de fácil manipulação (GUILLÉN-NAVARRO *et al.* 1998; WU *et al.*, 2004).

A atividade enzimática e a variação de pH dos reatores com fungos e dos reatores de controle com o mesmo valor de pH, ao longo do tempo reacional de 6 dias, são apresentados na Figura 1 e Figura 2, respectivamente.

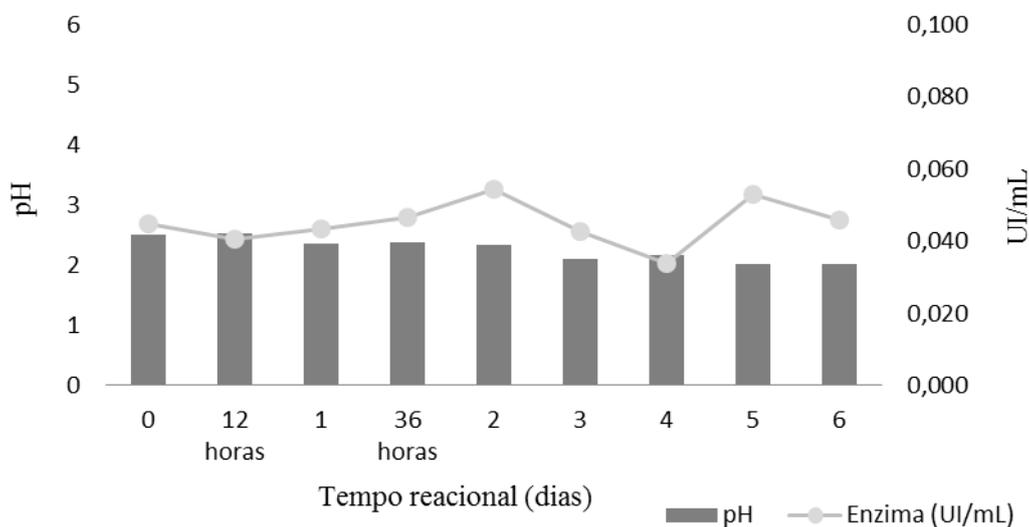


Figura 1. Variação da atividade enzimática e do pH ao longo do tempo reacional de 6 dias, com pH inicial de 2,5. IFCE, 2017.

Observou-se que a atividade enzimática ocorreu com mais intensidade em reatores com fungo a partir das primeiras 36 horas, atingindo um valor de 0,047 UI/mL. Porém, o pico de produção deu-se no 2º dia (0,055 UI/mL).

Essa produtividade do *Phanerochaete chrysosporium* pode estar vinculada ao fato deste ser um fungo basidiomiceto da podridão branca, que se caracterizam por despolimerizar materiais ligninocelulósicos. Alguns fungos de podridão branca, como o *Phanerochaete chrysosporium* e *Gloeophyllum trabeum*, são capazes de degradar a celulose através da liberação de enzimas celulasas (BEY, 2011).

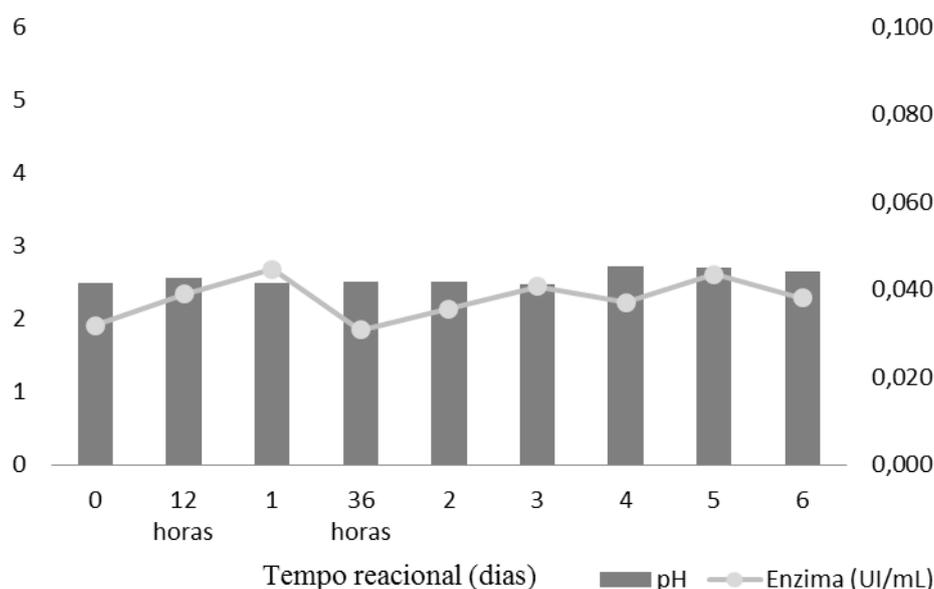


Figura 2. Variação da atividade enzimática e do pH ao longo do tempo reacional de 6 dias do grupo de reatores de controle, com pH inicial de 2,5. IFCE, 2017

Observou-se que a maior atividade enzimática do grupo controle aconteceu no 1º dia de tempo reacional (0,045 UI/mL), ligeiramente inferior ao registrado nos reatores com fungos (0,055 UI/mL). Semelhantemente, em termos de produtividade, os reatores com fungos e de controle apresentaram valores próximos, com produção de 0,027 UI/mL.dia e de 0,024 UI/mL.dia, respectivamente. Isto pode indicar a necessidade da introdução de pré-tratamento, objetivando maior disponibilidade da lignina no meio para a ação dos fungos na produção de celulase.

Em um estudo realizado por Oliveira Júnior (2014) foi avaliado a produção de celulases e endoglucanases pelas espécies fúngicas *Aspergillus fumigatus* e *Penicillium chrysogenum*, utilizando a fibra de coco e uma mistura de fibra de coco com pedúnculo de caju como substrato em três pH diferentes (3,5 e 7). O autor obteve uma produção enzimática de 0,058 UI/mL com o fungo *Penicillium chrysogenum*, quando o substrato indutor utilizado era mistura de fibra de coco e pedúnculo de caju, sendo este valor de atividade enzimática similar ao encontrado na presente pesquisa (0,0055 UI/mL), ressaltando-se que também não foi empregado nenhum tipo de pré-tratamento.

Em relação ao pH, os reatores com fungo apresentaram uma baixa variação de pH, tendo o meio atingido seus menores valores a partir do 4º dia. Da mesma forma, os reatores controle mantiveram o pH entre 2,5 e 2,6 ao longo do tempo reacional.

A baixa taxa de variação do pH pode ser explicado pelo poder de tamponamento que a maioria dos substratos lignocelulósicos possuem, que acabam minimizando essa variação (YOON et al. 2014). Khan (2007) afirmou também que essa baixa taxa de variação do pH está relacionada com as atividades metabólicas do fungo, como produção de ácidos orgânicos que mantem o meio ácido, o que é fundamental para a produção enzimática.

CONCLUSÃO

O fungo *Phanerochaete chrysosporium* foi capaz de utilizar a fibra de coco adicionada de glicose como fonte de carbono, alcançando valores de atividade enzimática e de produtividade próximos ao encontrado na literatura em pesquisa semelhante. Os resultados apresentados pelos reatores controle, nos quais a atividade enzimática ficou próxima pode indicar possível contaminação do meio.

Em uma próxima etapa da pesquisa, com uso de pré-tratamento do substrato, espera-se alcançar maior atividade enzimática nos reatores com fungos.

Também é importante ressaltar a necessidade de estudos sobre o maior aproveitamento do potencial dos fungos na produção de enzimas extracelulares através de resíduos agroindustriais, em especial o coco verde. Com isso, contribuindo para um melhor aproveitamento desses resíduos e minimizando os impactos ambientais causados por eles.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BEY, M. et al. **Heterologous expression of *Pycnoporus cinnabarinus* cellobiose dehydrogenase in *Pichia pastoris* and involvement in saccharification processes.** *Microb Cell Fact.* 2011.
2. GHOSE, T.K. **Measurement of cellulase activities.** *Pure & Applied Chemistry*, v. 59, n.1, p.257-268, 1987.
3. GUILLÉN-NAVARRO, G.K et al. **Producción de biomassa y enzima ligninolíticas por *Pleurotus ostreatus* em cultivo submergido.** *Revista Iberoamericana de Micología, Barcelona*, v.15, p. 302-306, oct. 1998.
4. KHAN M.M.H, ALI, S; FAKHRU'L-RAZI, A; ALAM, M.Z. **Use of fungi for the bioconversion of rice straw into cellulase enzyme.** *Environ Sci Health Part B-Pestic Food Contam Agric Wastes.* 2007.
5. OLIVEIRA JÚNIOR, Sérgio Dantas de. **Produção de enzimas por fungos em fermentação semi-sólida utilizando bagaço de coco e pedúnculo de caju como substratos.** 2014. 103 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal. 2014.
6. YOON L.W et al. **Fungal solid-state fermentation and various methods of enhancement in cellulase production.** *Biomass and Bioenergy* 67. p. 319-338. 2014.
7. ZÚÑIGA, U, F. **Desenvolvimento de um bioprocesso para Produção de celulasas específicas na cadeia Produtiva do etanol de segunda geração.** Tese (doutorado em Ciências da Engenharia Ambiental). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo. 197 f. São Carlos, 2010.
8. COELHO, M.A.Z et al. **Aproveitamento de resíduos agroindustriais: produção de enzimas a partir da casca de coco verde.** *Boletim Ceppa, Curitiba*, v.19, n.1, p.33-42, 2001.
9. CARIJÓ, O. A.; LIZ, R. S.; MAKASHIMA, N. **Fibra da casca do coco-verde como substrato agrícola.** *Horticultura Brasileira.* v. 4, n. 20, p. 533-535, 2002.
10. VALE, A.C; SOARES, J.B; CASAGRANDE, M. Toe. **Aplicabilidade de fibras de coco em misturas asfálticas tipo SMA.** In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISA E 250 DESENVOLVIMENTO EM PETRÓLEO E GÁS, 4., 2007, Campinas. Resumos... Campinas: ABPG, 2007.
11. PANDEY, A. et al. **Solid-state fermentation for the production of industrial enzymes.** *Current Science*, v.77, n.1, p.149-162, 1999.
12. LAUFENBERG, G.; KUNZ, B.; NYSTROM, M. **Transformation of vegetable waste into value added products: (A) The upgrading concept; (B) Practical implementations.** *Bioresource Technology*, v.87, n.2, p.167-198, 2003.
13. SENHORAS, E. M. **Oportunidade na cadeia agroindustrial do coco-verde: Do coco nada se perde, tudo se desfruta.** *Revista Urutagua, Maringá*, n. 05, 2004.
14. COUTO, S.R.; SANROMÁN, M.A. **Application of solid-state fermentation to ligninolytic enzyme production.** *Biochemical Engineering Journal*, v.22, n.3, p.211-219, 2005.