

UTILIZAÇÃO DE RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS PARA PRODUÇÃO DE CELULASE POR *Bacillus smithii* QT03

Carlos Eduardo de Sousa Teodoro ¹

Analyse Villanueva Gaete²

Ana Paula Martinazzo³

Amanda Rodrigues⁴

Química Ambiental

Resumo

Os resíduos agroindustriais são um dos maiores constituintes dos materiais lignocelulósicos, sendo compostos principalmente de celulose, hemiceluloses e lignina. As enzimas responsáveis pela degradação da celulose são as celulasas, essas enzimas podem ser utilizadas nas indústrias para fabricação de alvejantes, detergentes, alimentos, bioplásticos, biocombustíveis, entre outros usos. O Objetivo deste trabalho foi avaliar o uso de resíduos agroindustriais como fonte de carbono para a produção de celulasas por *Bacillus smithii* QT03. A determinação do melhor resíduo foi feita incubando a *B. smithii* QT03 no meio de cultura contendo 1% dos seguintes resíduos: bagaço de cana, bagaço de malte, casca de coco, casca de amendoim, papel e CMC. As amostras foram retiradas a cada 24 h para determinar as atividades enzimáticas durante o período de 120 h a fim de identificar o melhor tempo de incubação da bactéria para a produção enzimática. Uma vez identificado o melhor resíduo agroindustrial, foram realizados testes para determinar a concentração ideal da fonte de carbono para a produção de celulase. A produtividade de celulase na presença de bagaço de malte no meio de cultura foi superior às demais fontes de carbono estudadas. Assim, foi considerado o tempo de 48 h o melhor para a incubação do microrganismo *B. smithii* QT03 no meio de cultura com bagaço de malte em uma concentração de 2%. Pesquisas futuras serão realizadas a fim de se otimizar as condições de cultivo do microrganismo para melhorar a atividade enzimática.

Palavras-chave: Biotecnologia, enzimas, microrganismos, bactérias, fontes de carbono.

¹ Prof. Dr. Sc. Carlos Eduardo de Sousa Teodoro – Universidade Federal Fluminense, Escola de Engenharia Industrial e Metalúrgica de Volta Redonda. carlosteodoro@id.uff.br

² Analyse Villanueva Gaete (mestrado em tecnologia ambiental) – Universidade Federal Fluminense, Escola de Engenharia Industrial e Metalúrgica de Volta Redonda. an4lyse@gmail.com.

³ Prof. Dra. Sc. Ana Paula Martinazzo – Universidade Federal Fluminense, Escola de Engenharia Industrial e Metalúrgica de Volta Redonda. anapaulamartinazzo@id.uff.br.

⁴ Amanda Rodrigues (graduação em Engenharia em agronegócios), Universidade Federal Fluminense, Escola de Engenharia Industrial e Metalúrgica de Volta Redonda. amcorreia@id.uff.br

INTRODUÇÃO

Com a crescente população humana, o mundo está enfrentando uma enorme pressão para satisfazer as necessidades de alimentos, rações, produtos químicos e energia, e também para equilibrar a oferta e demanda de acordo com as salvaguardas ambientais. Para o desenvolvimento de bio-processos a partir de biomassa, um dos principais gargalos é a eficiente hidrólise de lignoceluloses em açúcares (BISWAS et al 2014) Enzimas hidrolíticas como celulasas convertem as lignoceluloses em açúcares que podem ser fermentados por vários microrganismos em biocombustíveis e outros produtos de valor agregado. O custo relativamente alto dessas enzimas continua a ser uma grande barreira à sua aplicação comercial em qualquer indústria, embora tenha sido feita uma redução significativa no custo de produção dessas enzimas nos últimos anos (MERINO E CHERRY 2007).

O objetivo geral deste trabalho foi avaliar o uso de resíduos agroindustriais como fonte de carbono para a produção de celulase por *Bacillus smithii* QT03.

METODOLOGIA

O microrganismo utilizado foi *Bacillus smithii* QT03. Para a produção de celulase, foi utilizado o meio de cultura com a seguinte composição: 0,7% de extrato de levedura, 4g/L KH_2PO_4 , 4g/L Na_2HPO_4 , 0,2g/L $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,001g/L $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,004g/L $\text{FeSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ e H_2O destilada 1L. O pH do meio foi ajustado para 7.0 e adicionado 1% das fontes de carbono. As amostras foram constituídas por frascos erlenmeyer de 250 mL contendo 50 mL do meio de cultura, os quais foram esterilizados em autoclave e posteriormente inoculados com a cultura de *Bacillus smithii* QT03 crescidos por 24h. Os frascos foram colocados em agitador rotativo a 150 rpm sob temperatura de 35 °C.

A determinação da melhor fonte de carbono foi feito incubando-se o *Bacillus smithii* QT03 em meio de cultura contendo 1% dos seguintes resíduos: bagaço de cana, bagaço de malte, casca de coco, casca de amendoim, papel e CMC. As amostras foram retiradas a cada 24 h para determinar as atividades celulolíticas durante 120 h.

Uma vez identificado o melhor resíduo agroindustrial, foram realizados testes para determinar a concentração ideal da fonte de carbono para a produção de celulase. Os meios de cultura foram preparados com as seguintes concentrações de bagaço de malte: 0,5%, 1%, 2%, 3% e 4%, e incubadas sob temperatura de 35°C, 150 rpm durante 48 horas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Determinação da fonte de carbono e tempo de incubação

Segundo o análise de variância evidenciou-se que a interação entre a produção de celulases com a fonte de carbono e o tempo de incubação são significativas.

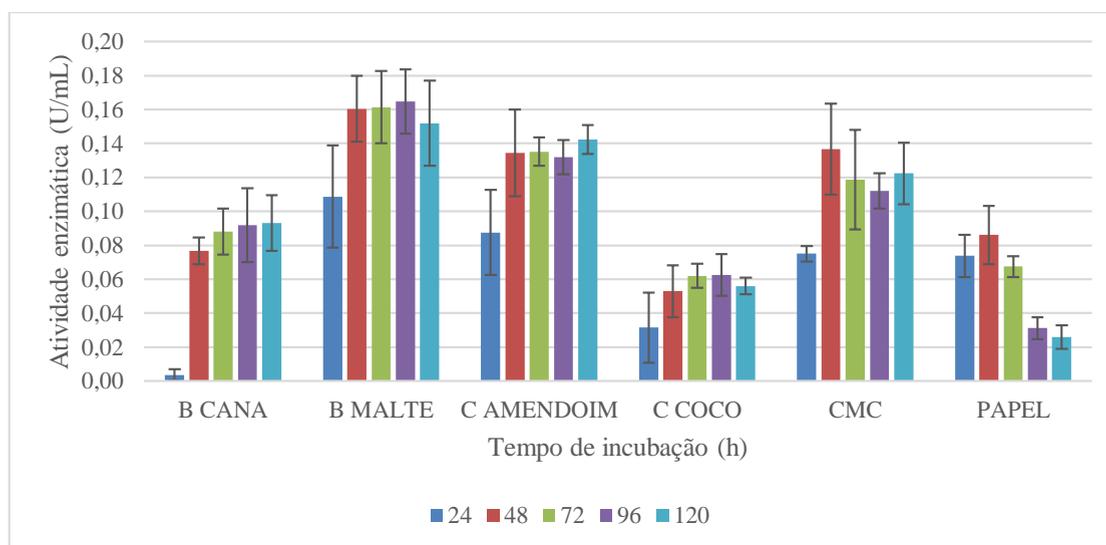


Figura 1. Atividade da celulase de *Bacillus smithii* QT03 cultivado em diferentes fontes de carbono e diferentes tempos de incubação. As barras representam o desvio padrão

Considerando a Figura 1 e os resultados da análise de variância, há evidências estatísticas de que a produção de celulase na presença de bagaço de malte no meio de cultura foi superior às demais fontes de carbono estudadas, além de mais é possível afirmar que em todos os tempos de incubação estudados, o bagaço de malte apresenta a média igual ou superior as demais fontes. Foi considerado o tempo de 48 h como o melhor para a incubação do microrganismo *B. smithii* QT03 no meio de cultura com bagaço de malte, por apresentar médias superiores de produção da enzima às 24 h e por não haver diferença significativa com os demais tempos de incubação.

MRUDULA (2011), estudou a produção de celulase por *Aspergillus niger* utilizando fibra de coco como substrato. A máxima produção de celulase foi obtida depois de 96 h. BOECHAT (2010) estudou a capacidade da bactéria *Bacillus sp* SMIA-2 para produzir celulase a partir de bagaço de cana. A secreção das enzimas avicelase e CMCase alcançaram o valor máximo de 20,12 U/mL e 21,65 U/mL.

3.2 Determinação da melhor concentração da fonte de carbono

A concentração de 2% de bagaço de malte no meio de cultura foi considerada a melhor concentração de fonte de carbono para produção de celulase.

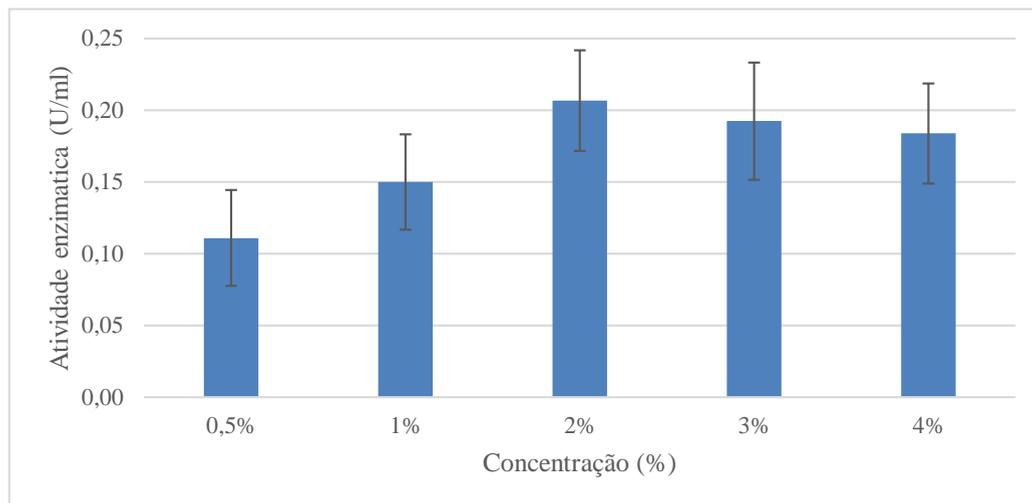


Figura 2. Atividade de celulase produzida por *B. smithii* cultivada em caldo nutriente contendo bagaço de malte em diferentes concentrações.

De acordo com os resultados obtidos na análise de variância, a interação entre a concentração da fonte de carbono e a produção enzimática é significativa, sendo os meios de produção com as concentrações de 2, 3 e 4% iguais e superiores às concentrações de 1 e 0,5%. Observando um aumento significativo entre as concentrações de 0,5 e 2%.

SETHI, et al (2013) otimizaram a produção de celulase utilizando as bactérias *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis*, *E. coli* e *Serratia marcescens*. Foram testadas concentrações de 1 a 5% de fontes de carbono (amido, frutose, maltose, sacarose e glucose), os resultados obtidos mostraram que 5% de todas as fontes estudadas trouxe a maior produção de celulase em comparação com outras concentrações. VILELA (2013) estudou a produção de celulases produzidas por *Streptomyces sp* em diferentes fontes de carbono. A maior atividade foi obtida com 0,75% de farelo de trigo e 0,1 de extrato de levedura.

CONCLUSÕES

A atividade enzimática com as condições estudadas chegaram a uma biossíntese aproximada de 0,20 U/mg de celulase. Os valores máximos foram obtidos nas condições de 48 h de incubação (35 °C e agitação de 150 rpm) com o bagaço de malte como fonte de

carbono a uma concentração de 2%. Os principais objetivos das futuras pesquisas seriam aumentar as medidas para a otimização de condições ou processos de crescimento para melhorar a produção de celulase.

AGRADECIMENTOS

Agradecimentos à Universidade Federal Fluminense, Escola de Engenharia Industrial Metalúrgica de Volta Redonda (EEIMVR-UFF), o Laboratório de Biotecnologia A Organização dos Estados Americanos (OEA) e o Grupo Coimbra de Universidades Brasileiras (GCUB) pela bolsa de estudos outorgada a aluna Analyse Villanueva Gaete,

REFERÊNCIAS

BISWAS, Ranjita; PERSAD, Abhishek; BISARIA, Virendra. Production of cellulolytic enzymes. Bioprocessing of Renewable Resources to Commodity Bioproducts. First Edition. 2014. Disponível em < https://www.researchgate.net/publication/278317292_Production_of_Cellulolytic_Enzymes> Acesso em: 20 jul 2019.

BOECHAT, Andréia Delatorre. Produção de celulases pelo microrganismo termofílico *Bacillus sp* SMIA-E. Campos dos Goytacazes-RJ, 2010. 72f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) Centro de Ciências e tecnologias agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Disponível em < http://www.uenf.br/Uenf/Downloads/PRODVEGETAL_3434_1280427887.pdf> Acesso em: 20 jul 2019

MERINO, Sandra; CHERRY, Joel. Progress and challenges in enzyme development for biomass utilization. Merino ST, Cherry J. 2007. *Adv Biochem Eng Biotechnol*, 108, 95–120. Disponível em < https://link.springer.com/chapter/10.1007%2F10_2007_066> Acesso em 10 ago 2019

MRUDULA, Soma; MURUGAMMAL, Rangasamy. Production of cellulose by *Aspergillus niger* under submerged and solid state fermentation using coir waste as a substrate. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2011, 42: 1119-1127. Disponível em < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1517-83822011000300033>. Acesso em: 20 jul 2019

SETHI, Sonia; DATTA, Aparna; GUPTA, B. Lal; GUPTA, Saksham. Optimization of cellulase production from bacteria isolated from soil. Hindawi Publishing Corporation. *ISRN Biotechnology*. Volume 2013. 7 p. Disponível em < <https://www.hindawi.com/journals/isrn/2013/985685/>> Acesso em: 31 jul 2019.

VILELA, Elvia de Sousa. Análise da produção de celulases e beta glicosidase produzidas por *Streptomyces sp*. Goiânia, 2013. 89 f. Dissertação (Programa de Pós-graduação em Biologia) Universidade Federal de Goiás. Goiânia. Disponível em < <https://pos.icb.ufg.br/up/101/o/Elvia.pdf>> Acesso em: 10 ago 2019