

ENRIQUECIMENTO PROTEICO DOS RESÍDUOS SÓLIDOS DO PROCESSAMENTO DE FRUTAS

Tamires Carvalho dos Santos¹, Devson Paulo Palma Gomes¹, George Abreu Filho²,
Marcelo Franco³.

1. Graduandos em Engenharia Ambiental

2. Graduando em Zootecnia.

3. Prof. D.Sc. do Departamento de Estudos Básicos e Instrumentais
(marcelofranco@pq.cnpq.br)

Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia
Praça Primavera, 40, Campus de Itapetinga, BA, Brasil.

RESUMO

A crescente preocupação com o meio ambiente vem mobilizando vários segmentos do mercado, ao contrário do que acontecia no passado, quando os resíduos eram dispostos de modo indevido, atualmente, os conceitos de minimização, recuperação e aproveitamento de subprodutos estão sendo cada vez mais difundidos. Além de apresentar um impacto negativo ao meio ambiente a geração de resíduos representa perda de matéria-prima e energia além de exigir grandes investimentos financeiros em tratamentos para controlar a poluição. O desenvolvimento de bioprocessos surge como uma alternativa viável para o aproveitamento dos resíduos agroindustriais. Essa pesquisa teve como objetivo demonstrar o enriquecimento protéico dos resíduos da fruticultura através da fermentação em estado sólido com auxílio do *Aspergillus niger*. Após o período de 168 horas de fermentação foi observada a elevação nos teores de proteína bruta para todos os resíduos estudados.

PALAVRAS-CHAVE: *Aspergillus niger*, Biotransformação, Meio Ambiente.

PROTEIN ENRICHMENT OF THE SOLID RESIDUES OF THE PROCESSING OF FRUITS

ABSTRACT

The increasing concern with the environment comes mobilizing some segments of the market, in contrast of what it happened in the past, when the waste was made use in improper way, currently, the concepts of minimizes, spread out by-product recovery and exploitation are being each time more. Beyond presenting a negative impact to the environment the generation of waste represents loss of raw material and energy beyond demanding great financial investments in treatments to control the pollution. The development of bioprocesses appears as a viable alternative for the exploitation of the agro-industrial residues. This research had as objective to demonstrate the protein enrichment of the residues of the fruit through the fermentation in solid state with aid of the *Aspergillus niger*. After the period of 168 hours of fermentation was observed the rise in rude protein for all the studied residues.

KEY WORDS: *Aspergillus niger*, Biotransformation, Environment.

INTRODUÇÃO

A geração de resíduos e subprodutos é inerente a qualquer setor produtivo. O aumento da conscientização ecológica, iniciado no final do Século XX, deixou claro que o grande desafio da humanidade para as próximas décadas é equilibrar a produção de bens e serviços, crescimento econômico, igualdade social e sustentabilidade ambiental (PELIZER et al., 2007).

A preocupação com o meio ambiente leva à viabilização de projetos que promovem a sustentabilidade do sistema de produção, ao contrário do que acontecia no passado, quando resíduos eram dispostos de forma indevida, atualmente, conceitos de minimização, recuperação, aproveitamento de subprodutos são cada vez mais difundidos (LAUFENBERG et al., 2003).

No Brasil a indústria de alimentos produz uma grande quantidade de subprodutos, tais como bagaços, farelos, cascas e sementes em geral. Utilizar esses coprodutos como matéria prima para bioprocessos torna-se viável devido ao seu baixo custo econômico e sua grande disponibilidade, pesquisas envolvendo os bioprocessos crescem exponencialmente, o foco da maioria delas é a busca por produtos com um alto valor agregado, como proteínas de alta digestibilidade, enzimas, biofertilizantes, biossurfactantes dentre outros metabólitos microbianos (SOCCOL & VANDENBERGH, 2003; COUTO & SANROMAN, 2006).

Basicamente a composição desses resíduos é de compostos lignocelulósicos, os quais são os recursos renováveis mais abundantes na natureza, sendo estes constituídos, principalmente de três componentes, celulose, hemicelulose e lignina (GALEMBECK et al., 2009).

Os compostos lignocelulósicos são os principais componentes para os bioprocessos (SANTOS et al., 2006), dentre estes a fermentação no estado sólido (FES) se destaca, sendo esta utilizada para a obtenção de diversos produtos com grande importância comercial, principalmente no Oriente (PANDEY et al., 2000). A fermentação em estado sólido pode ser definida como a deposição de microrganismos sobre partículas sólidas com a atividade de água suficiente para o crescimento celular. O processo de fermentação em estado sólido se torna mais eficiente com a utilização dos fungos filamentosos (GERVAIS & MOLIN, 2003).

Os fungos do gênero *Aspergillus* são economicamente importantes, sendo utilizados em numerosas fermentações, incluindo a produção de ácido cítrico além de ser o microrganismo mais usado no enriquecimento protéico de substratos (ROBINSON e NIGAM, 2003). No Japão, *Aspergillus wentii* é utilizado para produção de alimentos fermentados (HAG, 2003). O molho shoyu é preparado à base de soja e trigo que são fermentados por *Aspergillus soyae* ou *Aspergillus Oryzae*. O Koji é um alimento fermentado produzido por fungos sobre cereais, este é o substrato inicial de outros alimentos e bebidas fermentadas, como o saké, nesse bioprocessos o fungo mais utilizado é o *Aspergillus oryzae* (GHORAI et al., 2009).

Várias espécies fúngicas são tradicionalmente usadas para a produção de alimentos, infelizmente paralelamente existem algumas espécies fúngicas capazes de produzir metabólitos tóxicos, como as micotoxinas. A presença de micotoxinas é o maior obstáculo para o uso da biomassa fúngica na alimentação, especialmente a espécie *Aspergillus*. Estas toxinas podem produzir reações alérgicas e câncer de

fígado em humanos, isto justifica o desenvolvimento de métodos de detecção das micotoxinas biomassa. Felizmente, a produção de toxinas está restrita a um número relativamente pequeno de espécies fúngicas e, desta forma, desde que o homem passou a interferir nos processos transformadores dos alimentos, os fungos vêm sendo largamente empregados na indústria alimentícia. Exemplos mais comuns são os vinhos, queijos, temperos e uma série de outros pratos típicos de muitos povos. Segundo a FDA (Food and Drug Administration) órgão responsável pelo controle de alimentos e medicamentos nos Estados Unidos da América, considera que as espécies *Aspergillus oryzae* e *Aspergillus niger* entre outros como microrganismos seguros para aplicação na área de alimentos (ANUPAMA, 2000; TENDERDY e SZAKACS, 2003).

A produção industrial em larga escala de biomassa fúngica apresenta inúmeras vantagens, quando comparada aos métodos tradicionais para a produção de proteínas. As vantagens mais características são: a alta velocidade de crescimento; alto conteúdo de proteína, em peso seco pode atingir valores entre 50-55%; pode ser utilizada uma grande diversidade de fontes de carbono alternativas, entre elas os resíduos agroindustriais; as instalações para a produção de proteínas fúngicas ocupam pequenas áreas e resultam em alta produção; a produção microbiana independe das variações climáticas (SILVEIRA & FURLONG, 2007).

O objetivo deste trabalho é demonstrar a viabilidade da aplicação da fermentação em estado sólido sobre diversos resíduos da fruticultura além de quantificar o enriquecimento protéico tendo como inoculante o fungo filamentoso *Aspergillus niger*.

MATERIAL E MÉTODOS

Microrganismo e Substratos

O microrganismo estudado foi o *Aspergillus niger* proveniente de uma cepa do Laboratório de Reaproveitamento de Resíduos Agroindustriais da UESB campus de Itapetinga. Foram testados os seguintes resíduos obtidos do processamento das frutas: Cupuaçu, Jaca, Goiaba, Abacaxi e Seriguela. Os resíduos foram secos em estufa de secagem com circulação de ar forçada (SOLAB) a 70°C por 24h, posteriormente foram triturados em moinho tipo Wiley (20 mesh) sendo autoclavados a 121°C e 1atm por 15 minutos.

Inoculo

A cultura esporulada (em PDA HIMEDIA acidificado inclinado) foi suspensa em solução de Tween 80 VETEC a 0,01% procedendo-se a contagem do número de esporos em suspensão, utilizando câmara de Neubauer dupla espelhada e microscópio binocular BIOVAL L1000. Foram utilizados volumes de suspensão quantificando o valor de 10^7 esporos por grama de substrato (SANTOS et al., 2010).

Fermentação em Estado Sólido

A fermentação em estado sólido ocorreu em erlenmeyers contendo 40g dos resíduos os quais foram inoculados com 10^7 esporos por grama de substrato, após

esse procedimento ocorreu à hidratação a 50% de umidade. Os cultivos foram conduzidos a 35°C em estufa bacteriológica modelo SL 101 SOLAB, durante 168 horas de fermentação. Foram realizadas triplicatas de todo o procedimento.

Cálculos da proteína pelo método Semimicro Kjeldahl

Para a quantificação de nitrogênio foi utilizada a seguinte formula conforme descrito em SILVA (2002).

$$\% \text{ de nitrogênio} = \frac{(\text{Volume de H}_2\text{SO}_4 \times \text{fator do ácido} \times 0,01 \text{ N} \times 14 \times 100)}{\text{Peso da amostra em gramas}}$$

Em geral 100 g de proteína é admitido uma média 16 g de nitrogênio, calcula-se o teor de proteína multiplicando se pelo fator 6,25 o teor de nitrogênio.

$$\% \text{ de proteína} = \% \text{ de nitrogênio} \times 6,25$$

Análise estatística

A análise de variância (ANOVA) foi realizada e a diferença entre as médias de quatro repetições experimentais foi determinada através do Teste de Tukey ao nível de significância de $p < 0,05$. O software utilizado foi o STATISTICA v. 5.0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As análises dos processos através do teor protéico em porcentagem do material cultivado estão apresentadas na tabela 1 e figura 1, com as respectivas médias das triplicatas de cada amostra.

TABELA 1: Valores Protéicos antes e após a fermentação.

Resíduos de	Proteína % (Tempo zero)	Proteína % (após 168 hs)
Seriguela	7,56	11,43
Cupuaçu	7.21	10.15
Goiaba	6.43	11.38
Jaca	7.65	11.28
Abacaxi	7,04	10,31

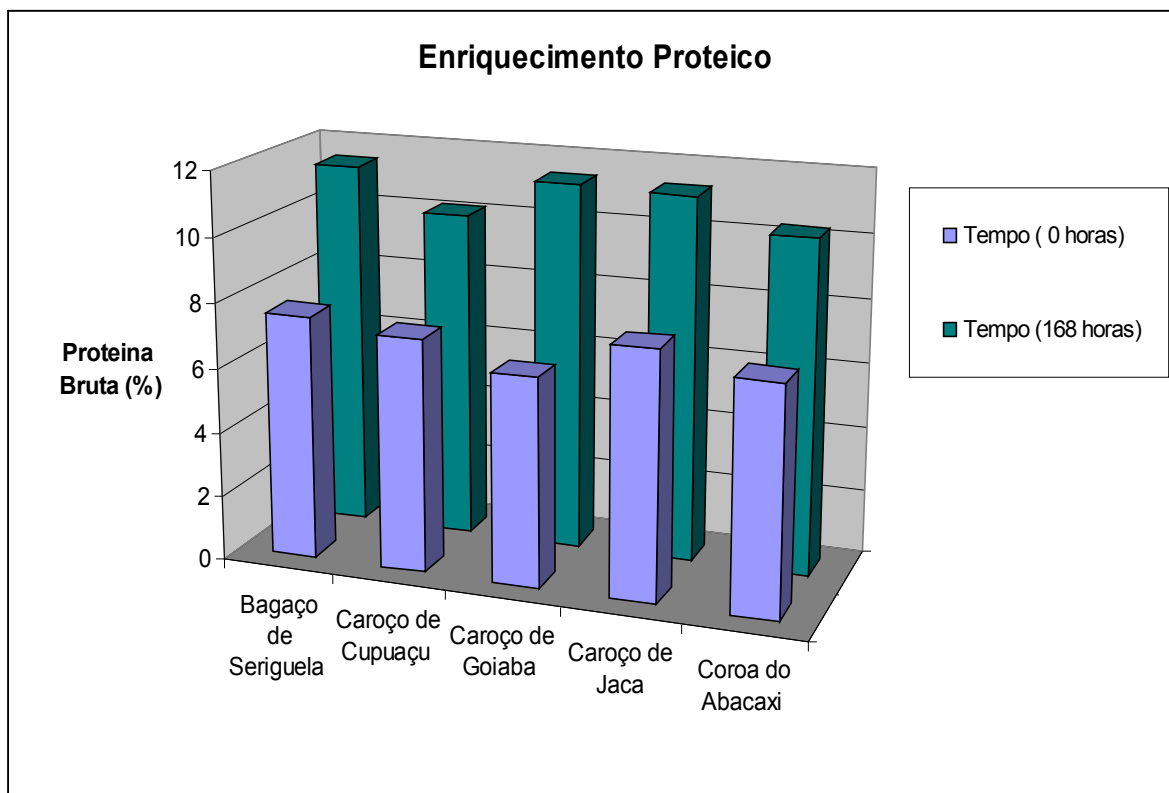


FIGURA 1: Gráfico de Barras demonstrando a variação na proteína bruta em função do tempo de fermentação.

A concentração de proteína no substrato no tempo zero ao ser comparado após o processo fermentativo (168 horas), obteve-se um aumento significativo em todos os resíduos.

TABELA 2: Enriquecimento Protéico após fermentação

Biomassa	Incremento Protéico (%)
Seriguela	51,2
Cupuaçu	40,8
Goiaba	76,9
Jaca	47,5
Abacaxi	46,5

Comparando os resultados obtidos com o enriquecimento protéico, tabela 2, em relação ao resíduo *in natura* é possível notar a viabilidade deste bioprocessos, onde os produtos provenientes da fermentação em estado sólidos podem ser inseridos na alimentação animal como suplemento alimentar. Nessas condições de cultivo a biomassa produzida através do resíduo da goiaba apresentou o maior enriquecimento protéico, enquanto que o pior valor foi encontrado no resíduo de cupuaçu. Conforme relatado por Franco (2009), é difícil estabelecer uma comparação entre os resultados obtidos com diferentes resíduos, tendo em vista as diferenças em suas composições, esses fatores impedem esse tipo de comparação.

CONCLUSÃO

Nesse trabalho demonstrou-se que através da fermentação em estado sólido, com auxílio do fungo filamentoso *Aspergillus niger*, é possível elevar os teores de proteína bruta de resíduos obtidos do processamento de frutas. Com esse tipo de bioprocesso é possível efetuar a transformação de um rejeito em um possível produto com alto valor agregado, sendo possível sua utilização nas fontes alimentares de produção animal. Futuramente será avaliada a eficiência nutricional dessa biomassa na alimentação de ruminantes. Além de avaliar outras fontes de carbono (resíduos agroindustriais) bem como a utilização de novas espécies microbianas e a adoção de novas variáveis, visando otimizar o enriquecimento protéico. A FES é uma tecnologia capaz de propor caminhos alternativos para os resíduos gerados, diminuindo possíveis problemas ambientais, bem como, de agregar valor a esses coprodutos.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) e a Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB) pelas bolsas de iniciação científica e tecnológica concedidas, ao Banco do Nordeste (BNB) pelo apoio financeiro concedido.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANUPAMA, R.P. Value-added food: single cell protein. **Biotechnology Advances**, v.18, p.459-479, 2000.

COUTO, S.R.; SANROMAN, M.A. Application of solid-state fermentation to food industry, A Review. **Journal of Food Engineering**, v.76, p. 291-302, 2006.

FRANCO, M. N. **Produção de celulases por actinomicetos, em resíduos agro-industriais, visando à obtenção de bioetanol**. 2009. 70 pp. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

GALEMBECK, F.; BARBOSA, C.A.S.; SOUSA, R.A. Aproveitamento Sustentável de Biomassa e de Recursos Naturais na Inovação Química. **Química Nova**, v.32, p.571-581, 2009.

GERVAIS, P.; MOLIN, P. The role of water in solid-state fermentation. **Biochemical Engineering Journal**, v.13, p.85-101, 2003.

GHORAI, S.; BANIK, S.P.; VERMA, D.; CHOWDHURY, S.; MUKHERJEE, S.; KHOWALA, S. Fungal Biotechnology in food and feed processing. **Food Research International**, v.42, p.577-587, 2009.

HAG, I.; ALI, S.; IQBAL, J. Direct production of citric acid from raw starch by *Aspergillus niger*. **Process Biochemistry**, v.38, p.921-924, 2003.

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.

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.

PELIZER, L.H.; PONTIERI, M.H.; MORAES, I.O. Utilização de Resíduos Agro-Industriais em Processos Biotecnológicos como Perspectiva de Redução do Impacto Ambiental. **Journal of Technology Management & Innovation**, V.2, p. 118-127, 2007.

ROBINSON, T.; NIGAM, P. Bioreactor design for protein enrichment of agricultural residue by solid state fermentation. **Biochemical Engineering Journal**, v.13, p.197-203, 2003.

SANTOS, D.T.; SARROUH, B.F.; SANTOS, J.C.; PEREZ, V.H.; SILVA, S.S. Potencialidades e Aplicações da Fermentação Semi-Sólida em Biotecnologia. **Janus**, v.4, p.165-183, 2006.

SANTOS, T.C.; FRANCO, M.; PIRES, A. J. V. Uso da fermentação em estado sólido para a bioconversão de resíduos agroindustriais. **Anais da V Semana de Agronomia da UESB**, v.1, p.5-10, 2010.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos. 3. ed. **UFV** 235.p Viçosa: Ed., 2002.

SILVEIRA, C.M.; FURLONG, E.B. Caracterização de compostos nitrogenados presentes em farelos fermentados em estado sólido. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, v.27, p.805-811, 2007.

SOCCOL, C.R.; VANDENBERGHE, L.P.S. Overview of applied solid-state fermentation in Brazil. **Biochemical Engineering Journal**, v.13, p.205-218, 2003.

TENGERDY, R.P.; SZAKACS, G. Bioconversion of lignocellulose in solid substrate fermentation, **Biochemical Engineering Journal**, v.13, p.169-179, 2003.