

Avanços Científicos e Tecnológicos em Bioprocessos

Alberdan Silva Santos
(Organizador)



Atena
Editora

Ano 2018

Alberdan Silva Santos
(Organizador)

Avanços Científicos e Tecnológicos em Bioprocessos

Atena Editora
2018

2018 by Atena Editora

Copyright © da Atena Editora

Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Diagramação e Edição de Arte: Geraldo Alves e Natália Sandrini

Revisão: Os autores

Conselho Editorial

Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
Profª Drª Deusilene Souza Vieira Dall’Acqua – Universidade Federal de Rondônia
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionale delle Figlie de Maria Ausiliatrice
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)

A946 Avanços científicos e tecnológicos em bioprocessos [recurso eletrônico] / Organizador Alberdan Silva Santos. – Ponta Grossa (PR): Atena Editora, 2018.

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

ISBN 978-85-85107-47-5

DOI 10.22533/at.ed.475180110

1. Bioprocessos. 2. Bioquímica. 3. Biotecnologia. I. Santos, Alberdan Silva.

CDD 553.7

Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422

O conteúdo do livro e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores.

2018

Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

www.atenaeditora.com.br

APRESENTAÇÃO

Avanços Científicos e Tecnológicos em Bioprocessos é uma obra que reúne vinte e três capítulos com temas em pesquisas científicas realizadas no campo da biotecnologia, e que envolve agentes biológicos e bioquímicos na geração de produtos ou processos. Nesta obra se concentram diversos avanços descritos nas metodologias e nos resultados, distribuídos em quatro tópicos principais, envolvendo: processos químicos e biotecnológicos no aproveitamento de resíduos; produção de metabólitos e enzimas; métodos analíticos e de simulação; e biotratamentos envolvidos na geração de energias. Esta obra foi escrita por jovens pesquisadores brasileiros que estão desenvolvendo suas teses e/ou dissertações em instituições nacionais. Por este motivo, os aspectos inovadores e o alcance dos resultados apresentados podem ser um grande estímulo para aqueles que visam conhecer com maior amplitude alguns dos aspectos biotecnológicos estudados em algumas das instituições de nosso país.

Alberdan Silva Santos

SUMÁRIO

EIXO 1: PROCESSOS BIOTECNOLÓGICOS APLICADOS NA PRODUÇÃO DE ENZIMAS E PROTEÍNAS

CAPÍTULO 1 1

AMYLASES IN PROTEIN SECRETOME PROFILE FROM *Aspergillus sp* WITH POTENTIAL TO DECONSTRUCT INTEGRAL STARCH

Patrícia Suelene Silva Costa Gobira
Rubens Menezes Gobira
Ricardo Felipe Alexandre de Mello
Hellen Kempfer Phillippsen
Nelson Rosa Ferreira
Alberdan Silva Santos

CAPÍTULO 2 7

PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA DE FRUTOSILTRANSFERASE EXTRACELULAR MICROBIANA PARA A SÍNTESE DE FRUTOOLIGOSSACARÍDEOS EM ESCALA LABORATORIAL

Rafael Firmani Perna
Josivan de Sousa Cunha
Sergio Andres Villalba Morales
Michelle da Cunha Abreu Xavier
Cristiane Angelica Ottoni
Elda Sabino da Silva
Alfredo Eduardo Maiorano

CAPÍTULO 3 23

ENZYMATIC COCKTAIL PRODUCED BY *Fusarium sp* WITH POTENTIAL TO DECONSTRUCT CRUDE CASSAVA STARCH (*Manihot esculenta Crantz*).

Patrícia Suelene Silva Costa Gobira
Elaine Cristina Souza Medeiros
Rubens Menezes Gobira
Ricardo Felipe Alexandre de Mello
Alberdan Silva Santos

CAPÍTULO 4 28

THE SYSTEMATIC INVESTIGATION OF L-ASPARAGINASE PRODUCED BY FILAMENTOUS FUNGI

Eliane Silva e Silva
Alberdan Silva Santos
Márcia Gleice da Silva Souza
Rubens Menezes Gobira
Maria Inez de Moura Sarquis

CAPÍTULO 5 33

EVALUATION OF METHYLOCYSTIS HIRSUTA GROWTH ON SUPPLEMENTED MINERAL MEDIA USING METHANE AS CARBON SOURCE

Rodrigo Pimentel Fernandes
Ana Cristina Pantoja Simões
Manuela Temtemples de Carvalho
Camila Ruiz Lopes
Nei Pereira Jr

CAPÍTULO 6 37

BIOTECHNOLOGICAL PRODUCTION OF ENZYMATIC EXTRACT WITH CELULOLYTICAL ACTIVITY FROM AGROINDUSTRY RESIDUES

Ivanilton Almeida Nery
Karine Belo Rocha de Lima
Marlon Castro da Silva
Edmir Fernandes Ferreira

EIXO 2: APROVEITAMENTO DE RESÍDUOS EM PROCESSOS BIOTECNOLÓGICOS E QUÍMICOS

CAPÍTULO 7 41

VALORIZAÇÃO DE RESÍDUOS DA PALMA DE ÓLEO (*ELAEIS SP*) PARA PRODUÇÃO DE POLISSACARÍDEOS EXTRACELULARES POR *PLEUROTUS OSTREATUS*

Jhonatas Rodrigues Barbosa
Maurício Madson dos Santos Freitas
Marcos Enê Chaves Oliveira

CAPÍTULO 8 50

AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO DE *Bacillus subtilis* UFPEDA 86 E DA PRODUÇÃO DE BIOSURFACTANTE UTILIZANDO RESÍDUOS DE FRUTAS COMO SUBSTRATOS

Camylla Carneiro Soares
Adrielly Silva Albuquerque de Andrade
Fábio Cirqueira da Silva
Andréa Farias de Almeida
Janice Izabel Druzian
Ana Katerine de Carvalho Lima Lobato

CAPÍTULO 9 65

ESTUDO DO REAPROVEITAMENTO DOS RESÍDUOS SÓLIDOS DA INDÚSTRIA CACAUEIRA.

Rhuany de Oliveira Silva
Iara Rebouças Pinheiro
Isabela Nascimento Tavares Ferreira

CAPÍTULO 10 70

BIOPRODUCTS FROM *Trichoderma harzianum* AS INDUCER OF RESISTANCE TO ANTHRACNOSE IN BEANS

Emanuele Junges
Marlove Fátima Brião Muniz
Ângela Diniz Campos
Thiarles Brun
Cleudson José Michelin
Marcio Antônio Mazutti

CAPÍTULO 11 81

ANALYSIS OF PRE-TREATMENT OF PINEAPPLE WASTE WITH HYDROGEN PEROXIDE IN THE OBTENTION OF TOTAL REDUCING SUGARS

Fernanda Ferreira Freitas
Lorena Costa Vasconcelos Macedo

Carlos Alberto Galeano Suarez
Araceli Aparecida Seolato
Inti Doraci Cavalcanti-Montaño,
Paula Rubia Ferreira Rosa

EIXO 3: MÉTODOS ANALÍTICOS, CINÉTICA, SIMULAÇÃO E MODELOS MATEMÁTICOS APLICADOS EM PROCESSOS

CAPÍTULO 12 86

USE OF LINEAR EQUATIONS FOR DETERMINATION OF APPARENT KINETIC PARAMETERS IN CELLULOLYTIC MEDIUM WITH *Trichoderma virens*

Nelson Rosa Ferreira
Suelem Paixão da Silva
Rubens Menezes Gobira
Maria Inez de Moura Sarquis
Alberdan Silva Santos

CAPÍTULO 13 92

PRODUCTION OF COMMON ORANGE FERMENTED BEVERAGE: KINECTIC STUDY AND SENSORY ANALYSIS

Jacqueline de Moraes Campêlo
Olga Martins Marques

CAPÍTULO 14 97

MATHEMATICAL MODELING OF GLUCOSE ACCUMULATION DURING ENZYMATIC HYDROLYSIS OF CARRAGEENAN WASTE

Samuel Conceição Oliveira
Fernando Roberto Paz Cedeno
Fernando Masarin

CAPÍTULO 15 104

PRODUÇÃO DE ESPOROS DE *Metarhizium anisopliae* POR CULTIVO SÓLIDO EM BIORREATOR DE TAMBOR ROTATIVO COM ROTAÇÃO INTERMITENTE: APLICAÇÃO DE MODELOS MATEMÁTICOS PARA PREDIÇÃO DE PERFIS DE TEMPERATURA

Érika Fernanda Rezendes Tada
Lucas Portilho da Cunha
João Cláudio Thoméo

CAPÍTULO 16 121

DETERMINAÇÃO DO FATOR DE EFETIVIDADE PARA ENZIMAS IMOBILIZADAS USANDO MÉTODOS DE REGRESSÃO SIMBÓLICA VIA PROGRAMAÇÃO GENÉTICA

Félix Monteiro Pereira
Luciano Eduardo Gomes Junior
Fabrício Maciel Gomes
Messias Borges Silva
Samuel Conceição Oliveira

CAPÍTULO 17 133

DEVELOPMENT OF ANALYTICAL METHOD, BY SPECTROSCOPY IN THE MIDINFRARED, AND MULTIVARIATE CALIBRATION FOR ETHANOL QUANTIFICATION IN THE FERMENTED MANGO

PULP (*Mangifera indica* L.) VARIETY BACURI.

Rubens Menezes Gobira
Patrícia Suelene Silva Costa Gobira
Ricardo Felipe Alexandre de Mello
Graziela Cristiane Telles da Silva
Sanclayton Geraldo Carneiro Moreira
Alberdan Silva Santos

CAPÍTULO 18 138

MÉTODOS DE IMOBILIZAÇÃO PARA ESTABILIZAÇÃO DE ENZIMAS

Anderson dos Santos Barbosa
Danyelle Andrade Mota
Lays Carvalho de Almeida
Juliana Lisboa Santana
Nayára Bezerra Carvalho
Sílvia Regina Soares Martins

CAPÍTULO 19 156

CINÉTICA DE DEGRADAÇÃO DAS ANTOCIANINAS E DA CORDO EXTRATO DE *Eugênia involucrata* NA PRESENÇA E NA AUSÊNCIA DE AGENTES CONSERVANTES NA TEMPERATURA DE 90°C

Lauren Menegon de Oliveira
Francine Antelo

EIXO 4: BIOTRATAMENTOS PARA GERAÇÃO DE ENERGIA E BIOPRODUTOS

CAPÍTULO 20 163

BIOTRATAMENTO DE VINHAÇA SINTÉTICA E GERAÇÃO DE ELETRICIDADE UTILIZANDO UMA CÉLULA A COMBUSTÍVEL MICROBIANA

Cristiane Angélica Ottoni
Marta Filipa Simões
Jonas Gomes dos Santos
Luciana Peixoto
Rodrigo Fernando Brambilla de Souza
Almir Oliveira Neto
António Guerreiro de Brito
Alfredo Eduardo Maiorano

CAPÍTULO 21 172

RECUPERAÇÃO DE BIOPRODUTOS A PARTIR DA GASEIFICAÇÃO DO LODO DE ESGOTO SANITÁRIO

Renan Barroso Soares
Ricardo Franci Gonçalves

CAPÍTULO 22 179

BIOPROSPECTING CAROTENOIDS PRODUCTION IN THREE BRAZILIAN MICROALGAE SPECIES

Sabrina da Silva Mesquita
Natália Guimarães Figueiredo
Inaiã Costa Cutrim
Simone Carvalho Chiapetta
Cláudia Maria Luz Lapa Teixeira
Eliana Flávia Camporese Sérvulo

CAPÍTULO 23 184

EFFECT OF TEMPERATURE AND SALINITY ON THE PRODUCTION OF CAROTENOIDS AND LIPIDS BY MARINE MICROALGA

Nicéia Chies Da Fré
Alessandro de Oliveira Rios
André Jablonski
Rosane Rech
Nilson Romeu Marcílio

SOBRE O ORGANIZADOR..... 193

VALORIZAÇÃO DE RESÍDUOS DA PALMA DE ÓLEO (*ELAEIS SP*) PARA PRODUÇÃO DE POLISSACARÍDEOS EXTRACELULARES POR *PLEUROTUS OSTREATUS*

Jhonatas Rodrigues Barbosa

Universidade Federal do Pará, Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Instituto de Tecnologia, Belém-Pará.

Maurício Madson dos Santos Freitas

Universidade Federal do Pará, Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Instituto de Tecnologia, Belém-Pará.

Marcos Enê Chaves Oliveira

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), Departamento de Agroindústria, Belém-Pará.

RESUMO: O óleo de palma é o principal óleo da matriz mundial de óleos vegetais e sua produção gera uma grande quantidade de resíduos lignocelulósicos e efluente líquido com potencial de aplicação biotecnológica. Dentro deste contexto, a produção de biomassa fúngica e exopolissacarídeos pode ser uma alternativa para reaproveitamento destes resíduos, assim como já vem sendo feito com resíduos de outros produtos agroindustriais como a cana-de-açúcar e milho. Com o objetivo de avaliar a produção de biomassa e exopolissacarídeos em cultivo submerso com o cogumelo *Pleurotus ostreatus* foram realizados ensaios fermentativos com diversas formulações contendo os resíduos da agroindústria da palma de óleo, POME (Palm oil mill effluent) e borra sólida do tridecanter. Os

ensaios foram conduzidos em frascos agitados e avaliados quanto a produção de biomassa e exopolissacarídeos. Os resultados de biomassa e exopolissacarídeos indicam que os tratamentos com maior quantidade de substrato (resíduos), foram os que melhor produziram biomassa e exopolissacarídeos em 10 dias de cultivo. Assim, os tratamentos T4 e T5 foram os que apresentaram melhores resultados na produção destes parâmetros, além da produção de biofilmes. O tratamento T5 apresentou a maior produção de biomassa e exopolissacarídeos, durante o processo fermentativo. Os resultados reforçam a importância do aproveitamento integral dos resíduos agroindústrias, dentro de uma perspectiva de inovação tecnológica em bioprocessos.

PALAVRAS-CHAVE: Resíduos de Palma de óleo; *Pleurotus ostreatus*; Exopolissacarídeos.

ABSTRACT: Palm oil is the main oil in the world vegetable oil matrix and its production generates a large amount of lignocellulosic waste and liquid effluent with potential for biotechnological application. Within this context, the production of fungal biomass and exopolysaccharides can be an alternative to reuse these waste, as it has been done with waste from other agroindustrial products such as sugar cane and corn. In order to evaluate the production of biomass and exopolysaccharides in culture submerged with

the *Pleurotus ostreatus* mushroom, fermentation tests were carried out with several formulations containing the oil palm agroindustry waste, POME (Palm oil mill effluent) and solid tridecanter sludge. The tests were conducted in shaken flasks and evaluated for the production of biomass and exopolysaccharides. The results of biomass and exopolysaccharides indicated that the treatments with the highest amount of substrate (waste) were the ones that produced the best biomass and exopolysaccharides in 10 days of cultivation. Thus, T4 and T5 treatments presented the best results in the production of these parameters, in addition to the production of biofilms. The T5 treatment showed the highest biomass and exopolysaccharides production during the fermentation process. The results reinforce the importance of the integral use of the agroindustry waste, within a perspective of technological innovation in bioprocesses.

KEYWORDS: Oil Palm Waste; *Pleurotus ostreatus*; Exopolysaccharides.

1 | INTRODUÇÃO

Exopolissacarídeos de fungos formadores de cogumelos, principalmente os comestíveis como os do gênero *Pleurotus* vem sendo amplamente estudados devido as suas características de biodegradabilidade, baixa toxicidade e potenciais atividades biológicas como anti-inflamatórias, antitumorais e antidiabéticas (PAPASPYRIDIS et al., 2012; HELENO et al., 2015; RUTHES; SMIDERLE; IACOMINI, 2015).

Os exopolissacarídeos são macromoléculas de alto peso molecular excretadas pelas células para o meio externo como resposta às condições de cultivo e principalmente influenciada pela composição de carbono, nitrogênio e pH do meio de cultivo (RUTHES, SMIDERLE; IACOMINI, 2015). Um dos exemplos mais clássicos é a produção de pululana com o fungo *Aureobasidium pullulans* utilizando o meio de cultivo POL. Este exopolissacarídeo tem amplas aplicações industriais e farmacêuticas (GIBBS; SERVIOUR, 1998; HELENO et al., 2015).

O gênero *Pleurotus*, por outro lado, é responsável pela produção de glucanas extracelulares que são utilizadas em fármacos e alimentos (HELENO et al., 2015).

Na produção industrial o custo do meio de cultivo é um importante fator para a viabilidade econômica da produção de exopolissacarídeos, sendo que meios complexos como o POL são onerosos por apresentarem constituintes caros como peptonas e extrato de levedura, além de glicose e outros sais (DICHINSON, 2015). Em vista disto, fontes alternativas de carbono, nitrogênio e micronutrientes de baixo custo e com potencial para uso em cultivo submerso de fungos voltados para a produção de exopolissacarídeos são uma forma de diminuição do custo de produção destes compostos. Em vista disto, meios alternativos baseados em resíduos agroindustriais vêm sendo testados como, por exemplo, resíduos agroindustriais da cana de açúcar, de trigo e de milho (BONATTI, KARNOPP, SOARES; FURLAN, 2004).

Atualmente o Brasil vem se destacando no cenário internacional de produção de óleo de palma, sendo que o estado do Pará é responsável por mais de 90% da

produção brasileira de óleo de palma (*Elaeis guineenses*) e a agroindústria de extração deste óleo gera da ordem de duas toneladas de efluente para cada tonelada de óleo produzida, sendo que só em 2018 são estimadas a produção de mais de 1,2 milhão de toneladas de POME – Palm Oil Mill Effluent, juntamente com o POME é gerada ainda a borra do tridecanter. Estes resíduos da agroindústria da palma de óleo podem ser uma alternativa viável para produção de biomassa fúngica e exopolissacarídeos em cultivo submerso.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a produção de biomassa fungica e exopolissacarídeos em cultivo submerso do fungo *Pleurotus Ostreatus* em resíduos da palma de óleo.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Microrganismo e manutenção

Para este estudo foi utilizada uma cepa comercial de *Pleurotus ostreatus* adquirida da Brasmicel. A manutenção da cepa foi feita a cada três meses em BDA (Batata Dextrose Ágar). As placas colonizadas com o micélio fúngico foram utilizadas como inóculo para os ensaios em frascos agitados.

2.2 Substratos

Para a avaliação de produção de polissacarídeos extracelular do fungo foram utilizados substratos compostos de resíduos da agroindústria da palma de óleo. Os resíduos utilizados foram o efluente líquido (POME), e a borra sólida de tridecanter, ambos foram adquiridos entre os dias 12 e 16 de março de 2017 no polo de produção de óleo de palma da DENPASA, localizada no km 12 da PA 240, município do Tauá, Pará, Brasil

2.3 Produção de Exopolissacarídeos (EPS) em Frascos Agitados

A produção biotecnológica de exopolissacarídeos foi feita em cultivo submerso contendo diferentes formulações de POME (Palm Oil Mill Effluent) e borra sólida. Foram realizados 5 tratamentos cujas formulações são descritas na tabela. 1, a seguir.

Tratamentos	Concentração de borra sólida (g)	Concentração de POME (mL)
T1	1,0	10,0
T2	3,3	27,5
T3	5,5	45,0
T4	7,8	67,5
T5	10,0	90,0

Tabela 1. Planejamento experimental dos ensaios para definição do melhor meio de cultivo para produção de biomassa e exopolissacarídeos.

Cada tratamento foi completado o volume para 100 mL com água deionizada e o cultivo foi realizado em frasco de erlenmeyer de 250 mL contendo cada meio específico, conforme a formulação descrita anteriormente em triplicata. Os meios foram esterilizados a 121°C e inoculados com a biomassa total de duas placas de BDA de 52,15 mm de diâmetro colonizadas com o micélio fúngico. Os fracos foram incubados em câmara de incubação do tipo SHAKER- MA-420 (MARCONI), velocidade de agitação de 150 rpm e 30 °C por 10 dias. A cada 48 horas uma amostra de 2 mL foi retirada para quantificação de exopolissacarídeos pelo método fenol-sulfúrico (ROSADO et al., 2002).

2.4 Quantificação da Biomassa Fúngica

Após o termino do processo fermentativo a biomassa micélica total de cada tratamento foi separada do sobrenadante por centrifugação (5000 rpm por 10 minutos). Esta biomassa separada foi pesada e em seguida colocada para secar em estufa a 75°C por 48 horas (DUBOIS, GILLES, HAMILTON, REBERS; SMITH, 1956).

2.5 Extração e Quantificação de Exopolissacarídeos (EPS)

Para a extração de EPS, as amostras de 2 mL coletadas a cada 48 horas de cultivo de todos os tratamentos em triplicata foram centrifugadas (14000 rpm por 10 minutos), para separar a biomassa do sobrenadante. 0,2 mL do sobrenadante de cada amostra centrifugada foi retirada e adicionou-se etanol 96% frio (4°C) a uma proporção de etanol: sobrenadante de 1:4 (v / v) para precipitar os EPS (LEE et al., 2003).

O total de EPS precipitado foi suspenso em água deionizada para completar 1 mL, em seguida foi retirada 0,1 mL da amostra suspensa de EPS em água e foram feitas diluições dessa para 2 mL. Desta amostra diluída 200 vezes foi retirada uma subamostra de 0,5 mL para determinação da concentração total de açúcares pelo método colorimétrico Fenol Sulfúrico (DUBOIS, GILLES, HAMILTON, REBERS; SMITH, 1956), o qual foi subsequentemente analisado em espectrofotômetro UV-Vis (Agilent Technologies) a 490 nm. A construção da curva padrão foi feita com glicose PA com concentração entre 0,1 a 0,01 g.L⁻¹. A purificação parcial do polímero foi feita com lavagens com etanol para eliminar componentes solúveis dos meios de cultura.

2.6 Análises Estatísticas

A análise estatística foi feita em *software* em linguagem R com análise de variância mista de dois fatores e medidas repetidas, sendo o tempo o fator intraindivíduo e o grupo de tratamentos os fatores entre indivíduos. Na existência de interação entre os fatores, procedeu-se à avaliação da interação por meio do método de Tukey ao nível de confiança de 95%.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Definição da melhor composição do meio de cultivo para produção de biomassa e exopolissacarídeos

Os perfis de açúcares totais solúveis durante o período fermentativo para cada um dos cinco tratamentos são apresentados na (fig. 2). A análise estatística dos dados apresentados nesta figura revelou que houve presença de interação entre tratamentos e tempo.

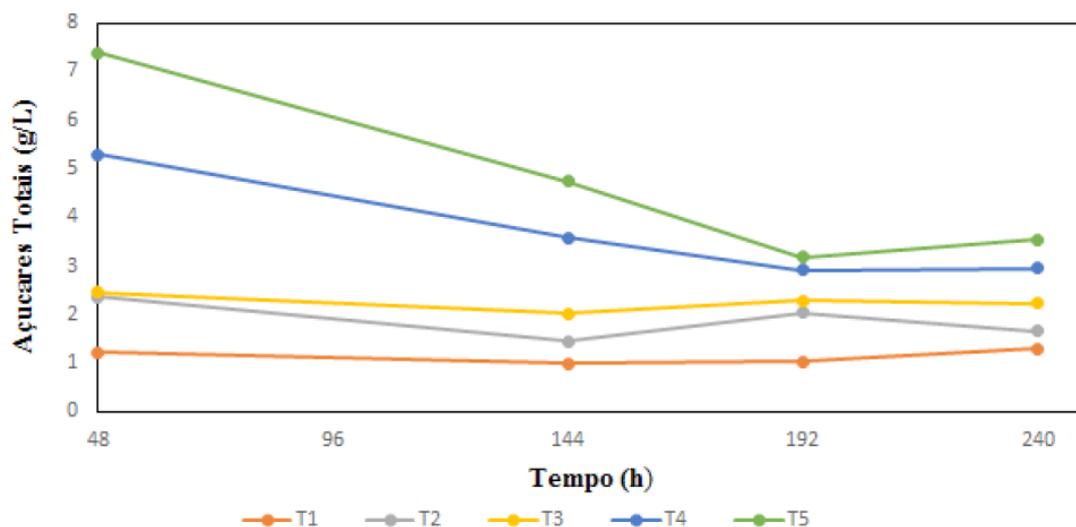


Figura 2. Perfil dos açúcares solúveis totais de cada tratamento ao decorrer do tempo de fermentação.

Observa-se na (fig. 2) que, de forma geral, há inicialmente uma diminuição acentuada dos açúcares totais e que ao passar do tempo há uma tendência de estabilização ou uma ligeira elevação do teor total de açúcares. Considerando os tratamentos T2 e T3, o consumo de substrato é acentuado até 144 horas, em seguida observam-se indícios de crescimento na produção de açúcares totais que pode ser interpretado como produção de exopolissacarídeos. Entretanto, considerando-se a análise estatística, resumida na tabela. 2, verifica-se que não houve diferença estatística ao nível de significância α 0,05 entre os diferentes intervalos de tempo.

Tratamentos	Tempo	N	Mínimo	Máximo	Média	Erro Padrão	Desvio Padrão	Intervalo de Confiança (95%)
T1	48 h	3	0,9736	1,6055	1,2252	0,1934	0,3350	(0,3930; 2,0575)
	144 h	3	0,9205	1,0895	0,9993	0,0491	0,0851	(0,7879; 1,2106)
	192 h	3	0,9355	1,1232	1,0367	0,0547	0,0947	(0,8014; 1,2720)
	240 h	3	0,8700	1,5365	1,3055	0,2179	0,3774	(0,3681; 2,2429)
T2	48 h	3	1,7276	3,4976	2,3639	0,5683	0,9842	(-0,0811; 4,8089)
	144 h	3	1,2621	1,6480	1,4500	0,1115	0,1931	(0,9702; 1,9298)
	192 h	3	1,7745	2,4799	2,0412	0,2210	0,3829	(1,0901; 2,9923)
	240 h	3	1,3833	2,1126	1,6686	0,2250	0,3897	(0,7006; 2,6366)
T3	48 h	3	2,0790	2,8710	2,4560	0,2294	0,3974	(1,4688; 3,4431)
	144 h	3	1,7701	2,4206	2,0297	0,1989	0,3446	(1,1738; 2,8856)
	192 h	3	1,9692	2,4799	2,2925	0,1623	0,2812	(1,5940; 2,9911)
	240 h	3	2,1020	2,3091	2,2250	0,0629	0,1089	(1,9545; 2,4955)
T4	48 h	3	4,4578	5,7048	5,2865	0,4143	0,7177	(3,5037; 7,0692)
	144 h	3	3,3941	3,9083	3,5853	0,1624	0,2813	(2,8864; 4,2841)
	192 h	3	2,3507	3,2312	2,9171	0,2837	0,4915	(1,6962; 4,1379)
	240 h	3	2,7763	3,1268	2,9589	0,1015	0,1757	(2,5224; 3,3954)
T5	48 h	3	6,7509	8,0899	7,3781	0,3888	0,6735	(5,7050; 9,0511)
	144 h	3	4,6517	4,8561	4,7346	0,0621	0,1075	(4,4674; 5,0017)
	192 h	3	2,5923	3,5640	3,1897	0,3019	0,5228	(1,8909; 4,4885)
	240 h	3	3,4755	3,6029	3,5410	0,0368	0,0638	(3,3825; 3,6994)

Tabela 2. Análise estatística descritiva dos tratamentos em função do tempo de cultivo, ao nível de significância de α 0,05.

Analisando-se os tratamentos T4 e T5, nota-se que as taxas de consumo de açúcares totais são acentuadas até 192 horas, quando se observam indícios de crescimento na produção de exopolissacarídeos até 240 horas. Estatisticamente, entretanto, foi observado que não há diferenças entre os resultados a partir do tempo de 144h. A produção de exopolissacarídeos para o tratamento T5 é consideravelmente alta ($3,60 \text{ g.L}^{-1}$) em 10 dias de cultivo, quando comparada a valores encontrados por outros autores como $3,15 \text{ g.L}^{-1}$ encontrado por Vamanu (2012), em meio composto por extrato de milho seco e suplementado com sais de sódio, magnésio, cálcio e amido de milho, cultivado em um biorreator de 4 litros, nas condições de 25°C , velocidade de agitação de 150 rpm, pH 5,5 e cultivado por 10 dias. Rosado et al., (2002), avaliaram a produção de exopolissacarídeos de *Pleurotus ostreatus* variando a concentração de sulfato de amônio em meio tradicional (POL), os melhores resultados foram $1,4 \text{ g.L}^{-1}$ em 12 dias de cultivo. Este resultado indica que esta é uma boa formulação do ponto de vista de volume de exopolissacarídeo produzido, restando avaliar o tipo de composto obtido nestas condições.

Quanto ao tratamento T1, observa-se que a produção de açúcares totais praticamente não mudou durante o processo fermentativo e a produção de exopolissacarídeos não pode ser observada. Estatisticamente, conforme apresentado na tabela 2, não houve diferença entre os diferentes intervalos de tempo, comprovando a constância dos açúcares totais observada no gráfico.

Todos os tratamentos apresentaram crescimento micélio sem a presença de contaminação. Observou-se também que as hifas formadas apresentavam distribuição pelo substrato, colonizando completamente o mesmo. Somente os tratamentos T4 e T5 apresentaram alta viscosidade e formação de biofilme no substrato. Os tratamentos com produção de biofilmes e limos fora da parede celular apresentam maior potencial para comercialização, pois a recuperação dos exopolissacarídeos do meio fermentativo é mais simples (RUTHES, SMIDERLE; IACOMINI, 2015).

Na figura 3 apresenta-se a relação entre a biomassa final seca, correspondente à massa micélio nos meios de cultivo, e a biomassa seca dos substratos (resíduos).

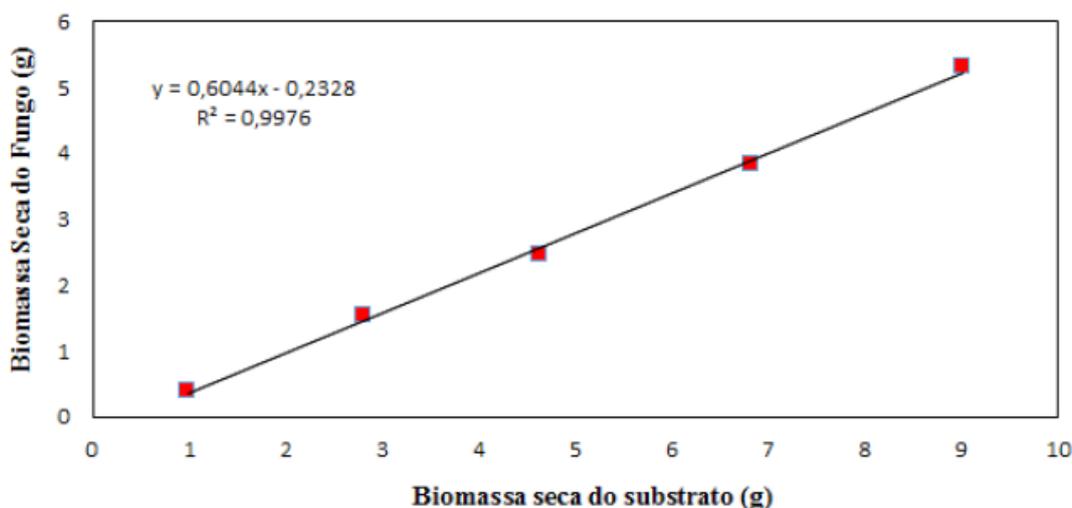


Figura 3. Correlação entre a biomassa seca do fungo *Pleurotus ostreatus* e a biomassa seca dos substratos.

Verifica-se na (fig. 3) que há uma correlação linear entre as mesmas, ou seja, um aumento na biomassa dos substratos (resíduos) implica em um aumento na biomassa micélio final com fungo. Isto implica que a produção de exopolissacarídeos de cada tratamento é diretamente proporcional à biomassa de substrato, ou seja, os tratamentos com a maior produção de biomassa fúngica foram os que apresentaram maior produção de exopolissacarídeos. Este resultado corrobora com o observado na (Fig. 2), onde se verifica que a concentração final de polissacarídeo cresce com o aumento da biomassa de substrato nos tratamentos.

Conforme observado nos resultados em cada tratamento, as formulações contendo POME e borra sólida proporcionaram um meio complexo de carboidratos e nitrogênio adequado para o crescimento do fungo, o que foi demonstrado com os resultados de biomassa e de exopolissacarídeos.

4 | CONCLUSÕES

A utilização de resíduos da palma de óleo como elementos de formulação de substrato para o cultivo do cogumelo comestível *Pleurotus ostreatus* mostrou-se viável, tanto para a produção de biomassa quanto para a síntese de exopolissacarídeos, sem a necessidade de acréscimo de qualquer outra suplementação ao meio. Observou-se que a produção de biomassa total de micélio fúngico em cada tratamento foi proporcional à biomassa de resíduos no substrato. Em vista disto, o tratamento T5, com maior concentração de biomassa residual de palma, levou à maior produção de biomassa fúngica, bem como à maior produção de exopolissacarídeos em cerca de 240 horas de avaliação. Os resultados demonstram a importância da aplicação dos resíduos agroindustriais em uma nova cadeia biotecnológica, com geração de resíduos mínimos, sendo uma tecnologia inovadora em bioprocessos.

REFERÊNCIAS

BONATTI, M.; KARNOPP, P.; SOARES, H. M.; FURLAN, S. A. Evaluation of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju* nutritional characteristics when cultivated in different lignocellulosic wastes. **Food Chemistry**, v. 88, p. 425-428, 2004.

DICHINSON, E. Emulsion gels: the structuring of soft solids with protein stabilized oil droplets. **Food Hydrocolloids**, v. 28, p. 224-241, 2015.

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, v. 28, p. 350-356, 1956.

GIBBS, P. A.; SERVIOUR, R. J. The production of exopolysaccharides by *Aureobasidium pullulans* in fermenters with low-shear configurations. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 49, p. 168-174, 1998.

HELENO, S. A.; FERREIRA, R. C.; ANTONIO, A. L.; QUEIROZ, M. J. R. P.; BARROS, L.; FERREIRA, I. C. R. F. Nutritional value, bioactive compounds and antioxidant properties of three edible mushrooms from Poland. **Food Bioscience**, v. 2, p. 48-55, 2015.

LEE, B. C.; BAE, J. T.; PYO, H. B.; CHOE, T. B.; KIM, S. W.; HWANG, H. J.; YUN, J. W. Biological activities of the polysaccharides produced from submerged culture of the edible basidiomycete *Grifola frondosa*. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 32, p. 574-581, 2003.

PAPASPYRIDIS, L. M.; ALIGIANNIS, N.; TOPAKAS, E.; CHRISTAKOPOULOS, P.; SKALTSOUNIS, A. L.; FOKIALAKIS, N. Submerged fermentation of the edible mushroom *Pleurotus ostreatus* in a batch stirred tank bioreactor as a promising alternative for the effective production of bioactive metabolites. **Molecules**, v. 17, p. 2714-2724, 2012.

ROSADO, F. R.; CARBONERO, E. R.; KEMMELMEIER, C.; TISCHER, C. A.; GORIN, P. A. I.; IACOMINI, M. A partially 3-O-methylated (1→4)-linked β -D-galactan and β -D-mannan from *Pleurotus ostreatus* Sing. **FEMS Microbiology Letters**, v. 212, p. 261-265, 2002.

RUTHES, A. C.; SMIDERLE, F. R.; IACOMINI, M. D-Glucans from edible mushrooms: a review on the extraction, purification and chemical characterization approaches. **Carbohydrate Polymers**, v. 117, p. 753-761, 2015.

VAMANU, E. Biological Activities of the Polysaccharides Produced in Submerged Culture of two Edible *Pleurotus ostreatus* Mushrooms. **Journal of Biomedicine and Biotchnology**, v. 1, p. 8. 2012. Acesso em: 17 de maio de 2018. Disponível em:< <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2012/565974/>>.

SOBRE O ORGANIZADOR

ALBERDAN SILVA SANTOS é Professor associado das faculdades de Química e Biotecnologia da UFPA; É Engenheiro Químico graduado pela UFPA; É Mestre em Química e Biotecnologia pelo Instituto de Química e Biotecnologia da UFPA; É Doutor em Bioquímica (Biotransformações com ênfase em oxidações microbiológicas) pelo Instituto de Química da UFRJ. Realizou Estágio pós-doutoral no Departamento de Biotecnologia do Instituto de Agroquímica e Tecnologia de Alimentos - IATA de Valencia, na Espanha. Atua no ensino de graduação e Pós-graduação no qual orienta Mestrandos e Doutorandos. Coordena projetos de cunho acadêmico-científico nos Laboratórios de Investigação Sistemática em Biotecnologia e Biodiversidade Molecular da UFPA, em áreas estratégicas como: Biotransformações; produção de enzimas; desenvolvimento de processos biotecnológicos no aproveitamento de resíduos agroindustriais para a produção de biomoléculas de interesse médico, cosméticas e farmacêutica; produção de biomoléculas a partir de cultivo de micro-organismos e cultivo de células vegetais. Aplica técnicas avançadas de Metabolômica e Lipidômica (CG/EM, LC/MS) na investigação metabólica de plantas e micro-organismos. Contribuiu na criação do curso de graduação e do programa de pós-graduação em Biotecnologia da UFPA. Foi o 1º Diretor da Faculdade de Biotecnologia da UFPA no período de 2009-2011. Atuou como vice-coordenador protempore do Programa de Pós-graduação em Biotecnologia da UFPA. Possui diversas publicações nas áreas da Química e Biotecnologia, assim como patentes. Recebeu a primeira Carta Patente na UFPA em dezembro de 2013. É pioneiro na otimização de processo de produção de metabólitos secundários e enzimas em cultura de células vegetais e de micro-organismos na Região Norte do Brasil.

Agência Brasileira do ISBN
ISBN 978-85-85107-47-5

