

Avaliação do potencial de micro-organismos para a biodegradação de resíduo da produção de farinha

Evaluation of the potential of microorganisms for a biodegradation of flour products residues

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo avaliar o potencial de degradação de biomassa de grãos de trigo para obtenção de açúcares fermentescíveis. Foram coletados swabs com amostras de microrganismos em dez pontos do Câmpus Ponta Grossa da UTFPR. As amostras foram repicadas em meio PCA para obtenção de colônias isoladas que foram repicadas e mantidas armazenadas no laboratório de fermentações. As amostras de grãos de trigo foram provenientes de descarte de moinho do município de Ponta Grossa. Os microrganismos não identificados foram inoculados no meio contendo como ingrediente principal os grãos de trigo. Para isso foram realizados três experimentos: grãos de trigos inteiros sem esterilização e sem pré- tratamento; grãos triturados e esterilizados e grãos triturados, pré-tratados e esterilizados. Para o acompanhamento da degradação das amostras foi realizada a medida do brix na fração líquida da amostra. As amostras com melhor desempenho tiveram um incremento de 14% no brix final.

PALAVRAS-CHAVE: Bioprospecção. Trigo. Açúcares fermentescíveis.

ABSTRACT

This work aimed to evaluate the the degradation potential I of wheat grain biomass for the production of fermentable sugars. Samples of microorganisms were collected at ten points of the UTFPR-Ponta Grossa. Samples were picked in PCA medium to obtain isolated colonies that were picked and kept stored in the laboratory. The samples of wheat grains were obtained from mill in the municipality of Ponta Grossa. The microorganisms were inoculated in the medium containing as main ingredient the wheat grains. For this, three experiments were performed: wheat grains without sterilization and without pretreatment; crushed and sterilized grains, and crushed, pretreated and sterilized grains. To monitor the degradation of the samples brix was measured in the liquid fraction of each sample. The best performing samples have a 14% increment in the final brix.

KEYWORDS: Bioprospecting. Weat. Fermentable Sugars.

Vanessa Vaz Leonel
nessa_leonel@hotmail.com
Universidade Tecnológica
Federal do Paraná – Campus
Ponta Grossa,
Paraná, Brasil
Sabrina Ávila Rodrigues
sabrinaavila@utfpr.edu.br
Universidade Tecnológica Federal
do Paraná – Campus Ponta Grossa,
Paraná, Brasil

Recebido: 19 ago. 2019.

Aprovado: 01 out. 2019.

Direito autorial: Este trabalho está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.



INTRODUÇÃO

O estudo do uso de biomassas alternativas para a geração de energia tem sido cada vez mais freqüente. Transformar compostos de alta massa molar, inicialmente sem potencial para uso nos processos fermentativos em sacarídeos de estrutura simples e baixa massa molar que possam ser convertidos via fermentativa em compostos passíveis de fornecer energia é um desafio atual o trigo (*triticumaestivum l.*) É o segundo cereal mais produzido no mundo, é cultivado em larga escala e em diversas regiões do mundo. O Paraná é o principal produtor nacional e a estimativa para 2019 é que haja um incremento na safra em relação ao ano anterior (abitrigo, 2019). Entre as principais aplicações do cereal está a moagem e produção de farinha. Neste processo, alguns grãos não apresentam qualidade adequada para moagem e são descartados, descascados e inteiros, destinados em sua maior parte para a alimentação animal este descarte apresenta-se como potencial biomassa para a fermentação, sendo necessário, para tanto, que as moléculas de alta massa molar presentes no grão sejam transformadas em açúcares fermentescíveis. Esta transformação pode ocorrer por hidrólise química, enzimática ou microbiana este trabalho tem por objetivo avaliar o potencial de micro-organismos para a biodegradação de resíduos da produção de farinha.

MATERIAL E MÉTODOS

Os micro-organismos utilizados foram coletados na Universidade Tecnológica Federal do Paraná Câmpus Ponta Grossa. A coleta foi realizada com uso de *swab* estéril em uma área de aproximadamente 16 cm² de superfícies de dez pontos de coleta. O *swab* após a coleta amostra foi inoculado por estriamento em placa de Petri contendo meio PCA (Plate Count Agar). Para o preparo das placas foi pesado 3,525g do meio e 150mL de água destilada, que após será autoclavado foi transferido nas 10 placas de Petri descartáveis e esterilizadas. As placas inoculadas foram incubadas na estufa à 28°C por 72 horas. Após este período foi observado o crescimento e selecionado uma ou mais colônias isoladas de fungos e bactérias em cada placa para repique em placa de petri contendo meio PCA incubada a 28°C por 72 horas. Os micro-organismos isolados foram utilizados para fazer as análises seguintes. As placas com os micro-organismos inoculados foram conservados em geladeira com repique mensal.

As amostras de grão de trigo descartadas do processo foram coletadas em moninho no município de Ponta Grossa-PR e transportadas até o Laboratório de Bioengenharia da UTFPR. Avaliadas as características físico-químicas e armazenadas em embalagens de 1 kg para acondicionamento em geladeira.

Para avaliação do potencial dos microrganismos isolados de degradarem os grãos de trigo foram realizados três experimentos: grãos de trigos inteiros sem

esterilização e sem pré-tratamento; grãos triturados e esterilizados e grãos triturados, pré-tratados e esterilizados.

No primeiro experimento foram utilizados 8 frascos de vidro contendo os grãos inteiros de trigo e água 2:1 (m:m) e inoculados com 10 mL de água péptonada estéril invertida sobre a placa cheia do microrganismo a ser utilizado. Com o auxílio de alça de Drigalski o conteúdo da placa foi homogeneizado e transferido para o meio com pipeta estéril. Os 8 frascos foram inoculados com micro-organismos diferente e incubados na estufa a 29°C por 10 dias.

No Segundo experimento os grãos de trigo foram triturados, adicionamos água (1:1) ou seja 50% de água e 50% de grão triturado, esterilizados em autoclave a 121°C por 15 minutos em tubos de ensaio contendo 25mL do meio e inoculados com uma alçada do micro-organismo utilizado. Os frascos foram incubados na estufa a 28°C por sessenta dias.

No terceiro experimento os grãos de trigo triturados foram submetidos duas amostras à uma pré hidrólise com ácido clorídrico (HCl) 1mol e uma amostra sem adição de ácido clorídrico submetida às mesmas condições operacionais. Amostra 1-50g trigo em 1L de água, segunda amostra 50gr de trigo em 1L de água e 10 mL de ácido clorídrico 1mol e a terceira amostra com adição de 20mL de ácido clorídrico 1mol em 1L de água com 50g de grão de trigo triturado. As três amostras foram submetidas à banho maria 60-70°C por 30 min. As 4 cepas com melhor desempenho na etapa anterior foram utilizadas neste experimento. Os frascos com as amostras foram inoculados em estufa a 28°C por sessenta dias.

Para o acompanhamento da degradação das amostras foi realizada a leitura do índice de refração das amostras, o °Brix utilizando o refratômetro analógico-RHB32.

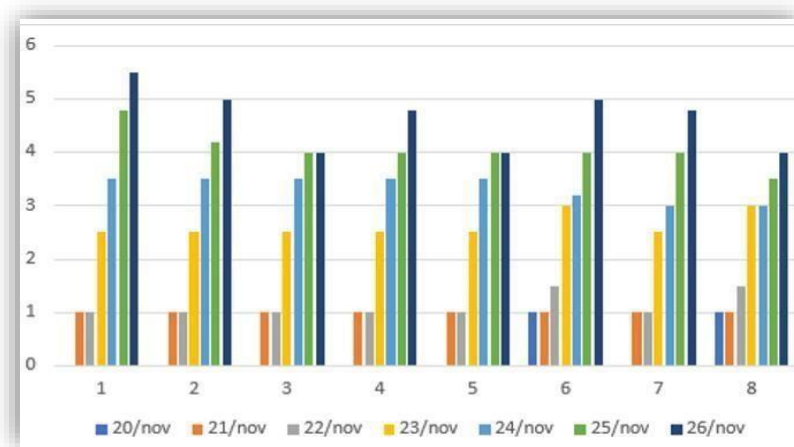
RESULTADO E DISCUÇÃO

Foram coletados os microorganismos com o swab em 10 pontos da UTFPR Câmpus Ponta Grossa, das quais 8 apresentaram colônias isoladas com características adequadas para aplicação nos experimentos. Na primeira fermentação (Figura 1) foi possível observar um aumento no °Brix dos micro-organismos não identificados no meio que contem o grão ao longo do período de incubação, na fermentação 1 o meio de todos os frascos são iguais só os micro-organismos eram diferentes.

Os açúcares de baixa massa molar possuem propriedade de refração diferente do amido e a sua presença pode ser detectada com o uso de refratômetro através da medida do °Brix que é uma escala numérica de índice de refração de uma solução, comumente utilizada para determinar, de forma indireta, a quantidade de compostos solúveis numa solução de sacarose (ARAÚJO, 1999).

Na primeira fermentação, após seis dias de experimento, todas as amostras apresentaram comportamento semelhante. A amostra 1 destacou-se das demais apresentando 4,5 pontos de incremento °Brix. Apesar do resultado positivo, este valor anda é inadequado para aplicações do produto obteve em processos de fermentação alcoólica, por exemplo. Por isso foram realizados outros experimentos.

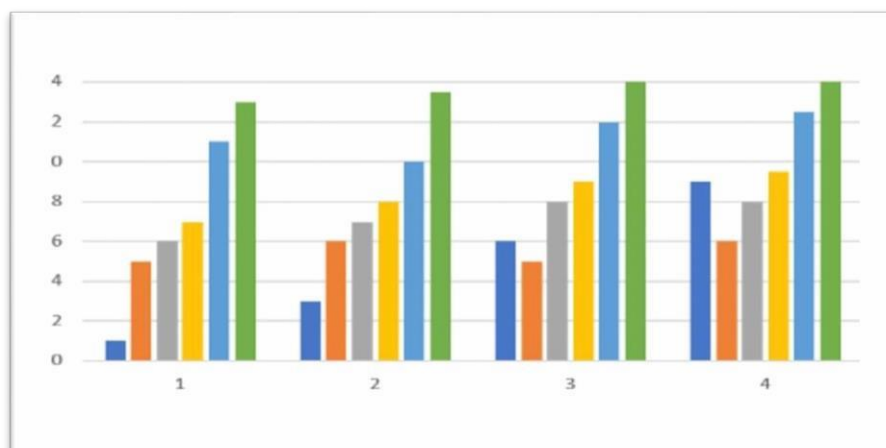
Figura 1: Teste fermentativo 1(Variação no °Brix de amostras com grão de trigo e os micro-organismos não identificados



Fonte: Autoria própria (2019)

Na segunda fermentação (Figura 2) foi possível atingir níveis superior a 10° brix com 30 dias de fermentação 14 °Brix ao final de 60 dias.

Figura 2: fermentação 2(Análise da variação do °Brix com o grão triturado e inoculado com os mesmos micro-organismos)

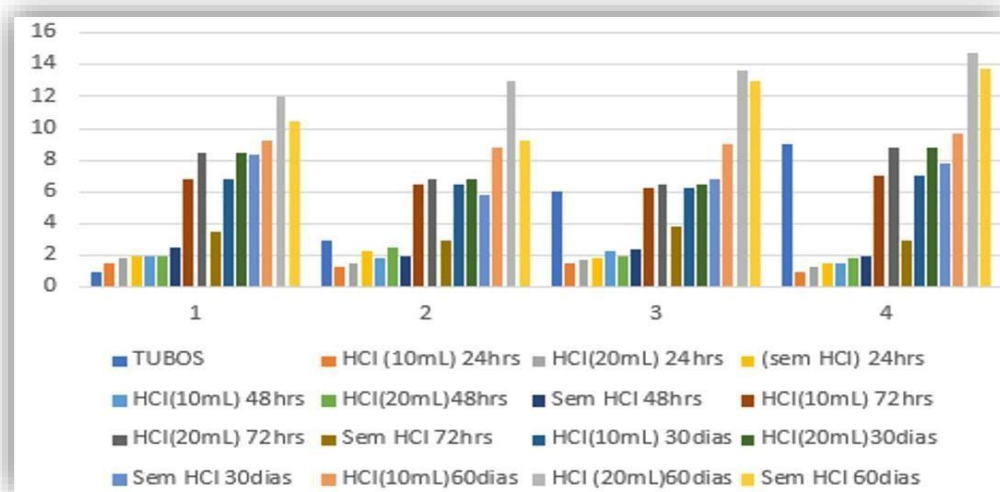


Fonte: Autoria própria (2019)

Provavelmente o aumento da superfície de contato do meio (grãos de trigo triturados) proporcionou melhora o aproveitamento do substrato pelos microrganismos ocasionando o aumento no brix das amostras (SCHIMIDELL, 2015). Na terceira fermentação (Figura 3) foi aplicado tratamento prévio com hidrólise ácida que segundo Ribeiro, et al (2009) é recomendada para realizar a quebra do amido em partículas de menor massa molar. Este processo adiciona etapa são processo o que o torna mais caro, por isso só é recomendada do quando a presença resultados expressivos. Para este experimento o uso da hidrólise ácida

nas condições em que foi aplicada apresentou resultados semelhantes aos das amostras da fermentação 2, não tratada, por isso não recomendamos o uso desta técnica para o pré-tratamento da amostra.

Figura 3 – fermentação 3 (Análise da variação do °Brix na hidrólise ácida)



Fonte: Autoria própria (2019)

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foram feitos vários testes em diferentes meios para a fermentação, até encontrarmos o meio onde houve maior variação do °Brix . Observou-se que o melhor meio, era com o grão de trigo triturado, água com 20mL ácido clorídrico com o microrganismo inoculado a 60 dias na hidrólise ácida. Foi onde obteve melhor o resultado, o °Brix final foi 14,7, se compararmos esse resultado com as da indústria, o °Brix está próximo, já que algumas indústrias trabalham com no mínimo °Brix 16. Apesar de está próximo, a fermentação na hidrólise ácida não é recomendada, já que gera mais custos e o meio sem a hidrólise ácido o °Brix foi de 13,4 na fermentação 3, dando uma diferença de 6,5%. Os microrganismos isolados estão em fase de identificação.

AGRADECIMENTOS

Na oportunidade em que o campus Ponta Grossa da UTFPR, juntamente com o curso de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, a professora responsável pelo projeto de pesquisa por me dar essa oportunidade e a minha família e amigos que sempre me apoiaram.

REFERÊNCIAS

(ABITRIGO. Associação Brasileira da Indústria de Trigo).

<<http://www.abitrigo.com.br/>Acesso em 01/08/2019.

(HOUGHTON J.S.; WEATHERWAX,J.; FERRELL,J. **Breaking The Biological Barriers To**

Cellulosic Ethanol:Ajoint ResearchAgenda,In Research Roadmap Resulting F Rom The Biomass To Biofuels Workshop Sponsored By The U.S. Department Of Energy., Us Department Of Energy, 2006). acesso em:01/08/2019.

<https://www.osti.gov/biblio/1218382ELLULOSIC.PDF>

(PEREIRAJR.,N.;COUTO,M.A.P.;SANTAANNA,L.M.M. **Biomass of lignocellulosic compositi on for fuel ethanol production within the context of biorefinery.Series on biotec hnology**,ed.1,v.2,2008). Acesso em 01/07/2019.

<http://www.scielo.br/pdf/bjm/v47s1/1517-8382-bjm-47-s1-0064.pdf>

(Tortora, G. J.; Funke, B. R.; Case, C. L. **Microbiologia**. Editora ARTMED 6ª edição cap 27, p 714-731, 2003).

(Awafo, V. A.; Chahal, D. S.; Simpson, B. K. **Optimization of ethanol production by Saccharomyces cerevisae (ATCC 60868) and Pichia stipitis Y-7124: A response surface model for simultaneous hydrolysis and fermentation of whet straw 2009**). Acesso em: 01/07/2019.

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1745-4514.1998.tb00258.x>

(Hargreaves; liboshi. Paulo. **BIOPROSPECÇÃO DE NOVAS CELULASES DE FUNGOS PROVENIENTES DA FLORESTA AMAZÔNICA E OTIMIZAÇÃO DE SUA PRODUÇÃO SOBRE CELULIGNINA DE BAGAÇO DE CANA**, engenharia química 2007). Acesso em: **01/07/2019**

<http://tpqb.eq.ufrj.br/download/bioprospeccao-de-novas-celulases-de-fungosfilamentosos.pdf>