Biotecnologia

ALTA PRESSÃO HIDROSTÁTICA COMO FERRAMENTA BIOTECNOLÓGICA NA UTILIZAÇÃO DOS RESÍDUOS DA PRODUÇÃO DE ÁGUA DE COCO VERDE.

Érica Dutra Albuquerque, Antonio Alberto Ribeiro Fernandes* e Patricia Machado Bueno Fernandes. Núcleo de Biotecnologia, Universidade Federal do Espírito Santo, Brasil; e-mail do autor correspondente*: aarfernandes@gmail.com (professor do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia/UFES)

INTRODUÇÃO

A produção agrícola no Brasil gera toneladas de resíduos por ano e, em particular, centenas de toneladas de casca de coco são descartadas a cada dia gerando um enorme problema ambiental. São produzidas em torno de 6,7 milhões de toneladas de casca de coco verde por ano, sendo que cerca de 85% é considerada lixo. Mais ainda, este resíduo leva, pelo menos, 8 anos para ser degradado, sendo um problema para a saúde humana, animal e do meio ambiente (CARRIJO et al, 2002; ROSA et al, 2002; BITENCOURT, PEDROTTI, 2008). Estratégias para a solução deste problema devem entrar nas pautas de discussão dos governos municipais, estaduais e federal. As parcerias entre a academia, governo e o setor empresarial são pontos chaves para uma solução ambientamente sustentável.

A população mundial cresce a cada ano, e espera-se que em 2050 ela atinja 9 billhões de pessoas, o que aumenta a demanda energética e a produção de resíduos agrícolas. A utilização de resíduos agrícolas para a geração do etanol celulósico tem sido sugerida como uma fonte viável para a produção de combustível renovável (MARTIN, 2010). Os resíduos da casca de coco podem ser reaproveitados para a produção do etanol celulósico, agregando valor a este poluente em potencial da costa brasileira, e em particular no estado do Espírito Santo (VAITHANOMSAT et al, 2011).

A produção do etanol celulósico é dividida em pré-tratamento da biomassa para retirada da lignina, seguida de hidrólise por celulases para liberação de açúcares para a fermentação à etanol; sendo estes os maiores custos do processo (EVELEIGH, 2009).

Este trabalho teve como objetivo desenvolver uma técnica de aproveitamento dos resíduos da casca de coco verde para a produção de bioetanol através da hidrólise enzimática. Para tal, utilizou-se enzimas do grupo das celulases de fungos decompositores e a aplicação de altas pressões hidrostáticas como ferramenta biotecnológica para incremento da hidrólise celulásica (ALBUQUERQUE et al,2011).

MATERIAL E MÉTODOS

Crescimento de fungos e Produção de celulases

Os fungos utilizados foram: *Trichoderma* sp, *Trichoderma reesei* RUT C30, *Aspergillus niger.* Os isolados fúngicos foram crescidos a 28°C à 150 - 160 rpm, em uma concentração de 10^7 esporos.ml^{-1} em meio de cultura indutor. Após cerca de 10 dias, o meio de cultura foi centrifugado a 10.000 rpm a 4 °C e o sobrenadante foi coletado e utlizado como amostra enzimática.

Coleta do material e pré-tratamento

Cascas de coco verde foram obtidas *in natura* de campos de produção de indústrias de envasamento de água de coco no estado do Espírito Santo/Brasil. Após serem lavadas em água destilada, foram secas a uma temperatura de 85 – 90 °C. A amostra foi triturada em moinho de disco vibratório (adaptado de SILVA et al, 2010). O pó da casca de coco foi padronizado utilizando peneira de 10 a 40 mesh.

Hidrólise da casca de coco verde

Os sólidos totais obtidos através do pré-tratamento da casca de coco verde foram submetidos à hidrólise enzimática, sob condições de alta pressão hidrostática, com celulases dos fungos celulolíticos e celulases comerciais (Celluclast 1.5L e Novozyme 188, Novozymes, Dinamarca) em tampão acetato de sódio 0,1M pH 5,0. A dosagem de açúcares redutores foi realizada utilizando o método de DNS (MILLER, 1959). Como controle positivo procedeu-se a reação em papel de filtro.

Análise morfológica do pó da casca de coco

As análise morfológica das amostras secas foram realizadas utilizando a técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A hidrólise celulásica relativa (valor de hidrólise na pressão hidrostática : valor de hidrólise à pressão ambiente) à alta pressão hidrostática foi cerca de duas vezes maior do que a hidrólise à pressão ambiente (Fig.1 A). Na ausência de celulases (Fig. 1 B) a liberação de açúcares não foi efetiva, mesmo sob pressão, demonstrando o efeito da pressão sobre as celulases. A aplicação de alta pressão hidrostática é capaz de modificar a estrutura da proteína, e sua conformação, podendo ativar ou inativar enzimas (EISENMENGER, CÓRCUERA, 2009).

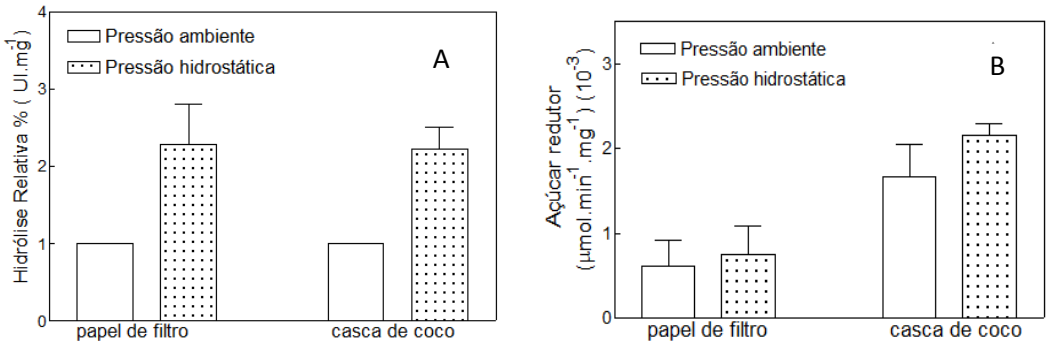


FIGURA. 1 – Hidrólise sob alta pressão hidrostática da casca de coco verde e do papel de filtro (controle). (A) Hidrólise celulásica relativa. (B) Açúcares redutores liberados na ausência de celulases.

A análise do pó da casca de coco após a sacarificação por 72 horas em MEV mostrou que as fibras são mais atacadas pelas celulases em condições de alta pressão hidrostática. Este fato, é corroborado pela presença de pequenos poros na superfície das fibras. Pode-se também notar que a alta pressão é capaz de causar rupturas nas fibras (Fig. 2).

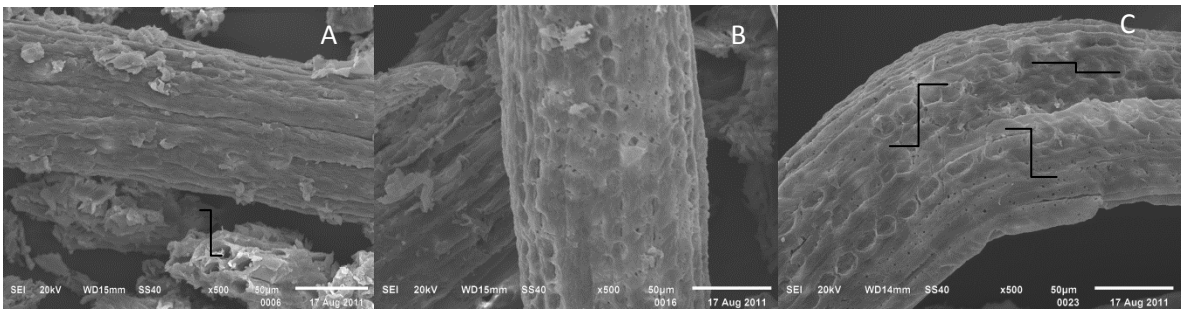


FIGURA. 2 – Microscopia eletrônica de varredura (MEV) da fibra de coco pré tratada com NaOH (aumento de 500x). (A) Fibra controle, a seta indica a alta porosidade. (B) Fibra após hidrólise celulásica à pressão ambiente. (C) Fibra após a hidrólise celulásica sob alta pressão hidrostática com maior ataque enzimático (pequenos poros) indicado pelas setas.

CONCLUSÕES

A aplicação da alta pressão hidrostática mostrou-se como uma ferramenta biotecnológica que pode ser utilizada para melhorar a hidrólise celulásica de resíduos de casca de coco para a produção do etanol celulósico, aumentando a eficiência da liberação de açúcares para a fermentação em até duas vezes.

AGRADECIMENTOS

Aos órgãos de fomento à pesquisa: CAPES, CNPq, FINEP, FAPES e MCT.

REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, E.D., FERNANDES, A.A.R., FERNANDES, P.M.B.. Processo de hidrólise enzimática sob alta pressão hidrostática a partir de resíduos agroindustriais. Pedido de patente em análise no **INPI** sob o número 025110000234. 2011.

BITENCOURT, D.V. AND PEDROTTI, A. Usos da casca de coco: Estudo da viabilidade de implantação de usina de beneficiamento de fibra de coco em Sergipe. **Revista Fapese**. 4, 113-114. 2008.

CARRIJO, O. A., LIZ, R. S. AND MAKISHIMA, N.. Fibra de casca de coco verde como substrato agrícola. **Horticultura Brasileira**. 20, 533-535. 2002.

EISENMENGER, M.J. AND REYES-DE-CORCUERA, J.I.. High pressure enhancement of enzymes: A review. **Enzyme and Microbial Technology** .45 . 331–347. 2009.

EVELEIGH, D.E., MANDELS, M., ANDREOTTI, R. AND ROCHE, C.. Measurement of saccharifying cellulase. **Biotechnology for Biofuels**. 2, 1-8. 2009.

MARTIN, M. A. First generation biofuels compete. **New Biotechnology** . 27, 597 – 607. 2010.

MILLER, G.L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Anal. Chem**. 31, 426–428. 1959.

SILVA, A.S., INOUE, H., ENDO, T., YANO, S., BON, E.P.S. Milling pretreatment of sugarcane bagasse and straw for enzymatic hydrolysis and ethanol fermentation. **Bioresource Technology**. 101, 7402–7409. 2010.

ROSA, M. DE F., BEZERRA, F. C., CORREIA, D., SANTOS, F. J. DE S., ABREU, F. A. P. DE, FURTADO, A. A. L., BRÍGIDO, A. K. L., NORÕES, E. R. DE V. Utilização da casca de coco como substrato agrícola. **Embrapa Agroindústria Tropical**. Documents, 52. 2002

VAITHANOMSAT, P., APIWATANAPIWAT, W., CHUMCHUENT, N., KONGTUD, W. AND SUNDHRARAJUN, S. The Potential of Coconut Husk Utilization for Bioethanol Production. **Kasetsart J. (Nat. Sci.)** 45, 159 – 164. 2011.