



DELINEAMENTO EXPERIMENTAL COMBINANDO O USO DA TRICHODERMA SG2 COM AS BIOMASSAS DE PAPEL E DE RESÍDUO DE PESCADO PARA PRODUÇÃO DE BIOCOMBUSTÍVEIS

FERNANDA DIAS DE ÁVILA¹; JOSIANE PINHEIRO FARIAS²; MARCELA DA
SILVA AFONSO³; CAROLINA FACCIO DEMARCO⁴; BENEDICT C. OKEKE⁵;
ROBSON ANDREAZZA⁶.

¹Universidade Federal de Pelotas – fehavila@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – jo.anetst@yahoo.com.br

³Universidade Federal de Pelotas – marcelamafonso@yahoo.com.br

⁴Universidade Federal de Pelotas – carol_demarco@hotmail.com

⁵Auburn University at Montgomery– bokeke@aum.edu

⁶Universidade Federal de Pelotas – robsonandrezza@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

É inegável que os combustíveis fósseis foram importantes para o crescimento da economia mundial, mas é impossível excluir o fato de que estes contribuíram para o aumento da concentração dos Gases de Efeito Estufa possivelmente acelerando o aquecimento global, e que tais emissões possam ter contribuído para o avanço de doenças respiratórias (ALVES, 2017). A substituição desses combustíveis por fontes renováveis de energia é um passo importante para a sustentabilidade do planeta. Energias a partir de fontes como a eólica, a solar e através de biomassas são uma possibilidade para tal demanda. Porém, a utilização de biomassas, por exemplo, não pode vir a comprometer a segurança alimentar (SACHS, 2011).

Como uma alternativa surgem os biocombustíveis gerados a partir de microrganismos como fungos e bactérias, é o caso do biodiesel de 3ª geração a partir de óleos microbianos (BUŠIĆ et al, 2018) e do etanol de 2ª geração a partir da hidrólise enzimática realizada por fungos (SANTOS, 2012; OKEKE, 2014). Os fungos são como biodegradadores naturais, possuem a capacidade de degradação de macromoléculas insolúveis em unidades monoméricas solúveis. Para isso, esses organismos secretam enzimas específicas para o meio exterior, conseguindo reduzir o tamanho das moléculas e aumentar a sua solubilidade (OLIVEIRA; LEMOS; BARROS; LEITE, 2008). Neste sentido, os resultados apresentados por OKEKE (2014) indicam que as cepas fúngicas de *Trichoderma* SG2 possuem potenciais para a produção interna de enzimas celulolíticas e xilanolíticas para sacarificação da biomassa lignocelulósica.

Tendo em vista o potencial de atividade enzimática da *Trichoderma* SG2 descrita nos estudos realizados por Okeke (2014) surge o objetivo de verificar a possibilidade de atividade enzimática a partir da degradação do resíduo de pescado e resíduo de papel. O uso do papel por ser uma biomassa lignocelulósica e a utilização do resíduo de pescado justifica-se pela grande quantidade em que é gerado e pelos dados ambientais que pode ocasionar quando descartado incorretamente. Estima-se que a produção pesqueira mundial tenha atingido 171 milhões de toneladas no ano de 2016 (FAO, 2018) gerando pelo menos 85,5 milhões de toneladas de resíduos, pois, em média, de 50% a 70% do pescado é descartado como resíduo durante seu processo de beneficiamento (DECKER, 2016. AGUIAR; LIMBERGER; SILVEIRA, 2014). Além disso, o uso de resíduo para a produção de energia é uma alternativa que não afeta a disponibilidade de alimentos.



Para atingir este objetivo, delineou-se o experimento que será apresentado neste trabalho. Cabe aqui ressaltar que este trabalho apresenta o processo de construção do método experimental com suas variáveis e não os resultados dos experimentos, pois estes ainda estão em processo de realização.

2. METODOLOGIA

O presente trabalho busca descrever o delineamento de um experimento que será realizado no laboratório de química ambiental da Universidade Federal de Pelotas no projeto em parceria com a Universidade Federal do Rio Grande do Sul e a Auburn University at Montgomery. A idealização do delineamento experimental foi possível a partir das leituras realizadas em artigos e livros, caracterizando esta pesquisa também como bibliográfica.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Pré-tratamento das biomassas

O papel escolhido para realização do experimento é papel utilizado após impressões e que seria descartado. O papel será picotado e terá seu tamanho diminuído para que aumente a superfície de contato e acelere as reações. Além disso, tendo em vista que o material utilizado para coloração após impressão possa alterar os resultados, o papel ficará de molho na água por dois dias e será lavado cinco vezes com água da torneira. Após passará por um processo de secagem em estufa com circulação de vento e temperatura de 30°C.

O resíduo de pescado não será selecionado por espécie, será coletado de acordo com a disponibilidade das peixarias e pescadores na Colônia de Pescadores Z-3. Será armazenado em caixa térmica e encaminhado para o Laboratório de Química Ambiental (Ceng – UFPEL) onde será separado em porções de 0,500 kg ou 1 kg e logo após será congelado para que se mantenham suas principais características. Os resíduos passarão por um processo de extração de óleo a partir do método utilizado por MEDEIROS et al. (2019), pois a intenção é que o experimento seja realizado com o resíduo gerado a partir da extração de óleo do resíduo do pescado, tendo em vista que este óleo já tem sua utilidade conhecida para a produção de biodiesel.

3.2 Condições para Produção Enzimática de *Trichoderma* SG2

Será preparado um meio (EPM1) já conhecido de enriquecimento para produção de enzimas composto por (em g.L⁻¹): 1,0 g de peptona, 0,5 g de extrato de levedura, 0,5 g de Tween 80, 2 g de KH₂PO₄, 1,2 g (NH₄)₂SO₄, 0,5 g de MgSO₄ 7H₂O, 0,1 g de CaCl₂, 0,003 g de CaCl₂, 0,003 g de FeSO₄ 7H₂O (Okeke, 2014) e 2 mL de solução de elemento mineral. A solução mineral contém: 169mg MnSO₄H₂O; 288 mg de ZnSO₄ 7H₂O, 250 mg de CuSO₄ 5H₂O; 26 mg de NiSO₄ 6H₂O; 28 mg de CoSO₄ e 24 mg de NaMoO₄. Porém, em alguns dos tratamentos realizados esse meio de produção de enzimas sofrerá alterações com a finalidade de descobrir a influência das biomassas selecionadas. O EPM2 será composto sem: sulfato de amônio (NH₄SO₄), extrato de levedura e peptona. E o EPM3 sem extrato de levedura e peptona.

O desenho do experimento será composto por quatro diferentes possibilidades variando concentração de papel, resíduo de pescado e meio



enriquecido. Em erlenmeyers de 125 mL serão adicionados os meios enriquecidos e depois serão autoclavado em 121°C por 20 minutos. Após resfriarem até temperatura ambiente, será inoculada em cada erlenmeyer uma porção de ágarbatata-dextrose de cultivo de *Trichoderma* SG2 com tamanho aproximado de 1cm². Estes erlenmeyers serão incubados de 5 a 6 dias a temperatura de 30°C e agitação de 200rpm.

Após as enzimas serão recuperadas por centrifugação (10 min; 5000 rpm), e os sobrenadantes serão utilizados para os ensaios de atividades enzimáticas celulase e xilanase.

3.3 Análises de Atividade Enzimática

Para o ensaio de celulase serão preparados 12 tubos contendo 0,033 a 0,035 gramas de papel de filtro cada. Após serão adicionados 0,5 ml de enzima e 0,5 ml de ácido acético 0,1 M pH 5. Para controle serão preparados mais 3 tubos, estes contendo 0,033 a 0,035 gramas de papel filtro, 0,5 ml de água destilada e 0,5 ml de ácido acético 0,1 M pH 5.

12 tubos também serão preparados para ensaio de xilanase, ambos contendo 0,01g de xilanase, 0,5 ml de enzima e 0,5 ml de ácido acético 0,1 M pH 5. Além dos 12 tubos, mais 3 servirão como controle. Nestes serão adicionados 0,01 gramas de xilanase, 0,5 ml de água destilada e 0,5 ml 0,5 ml de ácido acético 0,1 M pH 5.

O cálculo para determinar a atividade enzimática será realizado com a seguinte fórmula:

Atividade enzimática (U.mL⁻¹) = (A/mol) x Fd, onde:

A = concentração calculada a partir da curva;

Mol = massa molar de glicose (0,18 mg);

Fd = fator de diluição em relação ao meio de reação (0,5 mL de enzima + 0,5 mL de tampão, meio de reação total 1 mL). Fd = 2

4. CONCLUSÕES

A utilização da *Trichoderma* SG2 é um passo importante para otimização e diminuição dos custos para fabricação de biocombustíveis (OKEKE, 2014). Acredita-se que o método elaborado e aqui descrito, por já ter tido aplicações semelhantes com outros tipos de resíduos, seja adequado para o experimento. E que a partir das análises de celulase e xilanase seja possível determinar a atividade enzimática produzida por meio da *Trichoderma* SG2 com a combinação do uso de papel e resíduo de pescado. Além disso, verificar a possibilidade de substituição da fonte de nitrogênio do meio enriquecido, o sulfato de amônio, por resíduo de pescado. Dessa forma, espera-se que a realização do experimento possa vir a contribuir para o avanço dos usos e implementações da *Trichoderma* SG2 dando uma finalidade mais branda para resíduos que se descartados incorretamente podem trazer danos ao meio ambiente.

AGRADECIMENTOS

Este estudo foi parcialmente financiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código Financeiro 001.



5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, G. P.; LIMBERGER, G.; SILVEIRA, É. Alternativas tecnológicas para o aproveitamento de resíduos provenientes da industrialização de pescados. **Revista Eletrônica Interdisciplinar**, v. 1, p. 225-229, 2014. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/265049992_ALTERNATIVAS_TECNOLÓGICAS_PARA_O_APROVEITAMENTO_DE_RESÍDUOS_PROVENIENTES_DA_INDUSTRIALIZACAO_DE_PESCADOS>. Acesso em: dez 2019.

ALVES, J. E. D. Sustentabilidade, Aquecimento Global e o Decrescimento Demoeconômico. **Revista Espinhaço | UFVJM**, p. 4-16, mar. 2017. ISSN 2317-0611. Disponível em: <http://www.revistaespinhaco.com/index.php/journal/article/view/44>. Acesso em: 12 maio 2020.

BUŠIĆ, A. *et al.* Recent Trends in Biodiesel and Biogas Production. **Food technology and biotechnology**, v. 5, n. 2, p. 152–173, 2018. DOI:10.17113/ftb.56.02.18.5547.

DECKER, A. T. **Gestão Socioambiental de Comunidade de Pescadores Artesanais Colônia de Pescadores Z-3, Pelotas/RS**. 2016. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento Territorial e Sistemas Agroindustriais) - Faculdade de Administração e Turismo, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

MEDEIROS, E. F. de et al. Physicochemical characterization of oil extraction from fishing waste for biofuel production. **Renewable Energy**, v. 143, p. 471-477, 2019.

OKEKE, B. C. Cellulolytic and Xylanolytic Potential of High β -Glucosidase-Producing *Trichoderma* from Decaying Biomass. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 174, n. 4, p. 1581–1598, 2014.

OLIVEIRA, Sabrina Dias de; LEMOS, Judith Liliana Solórzano; BARROS, Claudia Afonso; LEITE, Selma Gomes Ferreira. **Emprego de Fungos Filamentosos na Biorremediação de Solos Contaminados por Petróleo**: Estado da Arte. Rio de Janeiro: CETEM/MCT, 2008.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA A ALIMENTAÇÃO E A AGRICULTURA (FAO). **El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2018**. Cumplir los objetivos de desarrollo sostenible. Roma, 2018.

SACHS, I. Entering the anthropocene: ‘Geonauts’ or ‘sorcerer’s apprentices?’ **Social Science Information**, v.50, n.3–4, p.462–471, 2011. DOI: 10.1177/0539018411411028.

SANTOS, D. da S. dos. **Produção de etanol de segunda geração por *Zymomonas mobilis* naturalmente ocorrente e recombinante, empregando biomassa lignocelulósica**. 2012. 218f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) - Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro.