



USO DE RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS PARA A PRODUÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS POR FERMENTAÇÃO EM ESTADO SÓLIDO

Use of agro-industrial residues for the production of phenolic compounds by solid state fermentation

*Lívia Oliveira SCHMATZ¹, Adriana Masson PARCIANELLO², Marcos Vinicius Gust GUND³, Guilherme Nunes LULY⁴,
Fernanda Arnhold PAGNUSSATT⁵*

RESUMO: Resíduos agroindustriais são fontes de carbono e nitrogênio e atuam como suporte para o crescimento fúngico. Este trabalho teve como objetivo aplicar resíduos agroindustriais no aumento da produção de compostos fenólicos, através de fermentação em estado sólido. Os substratos utilizados foram farelo de arroz, resíduo de chá verde e erva-mate, em diferentes proporções. O microrganismo usado foi o *Rhizopus oryzae* CCT 7560 e o bioprocessamento ocorreu em reatores do tipo bandeja, durante 7 dias. Após esse período, a biomassa foi congelada e os compostos fenólicos totais extraídos. A proporção de substrato mais indicada para ocasionar um aumento da produção de compostos fenólicos foi a 5:5 (farelo de arroz: chá verde), obtendo-se nessas condições, um teor de 22,4 mg.g⁻¹ de compostos fenólicos. Dessa forma, a fermentação em estado sólido proporcionou um incremento de 1,5 vezes no teor de compostos fenólicos, quando comparado com o controle, cujo valor inicial encontrado foi de 14,92 mg.g⁻¹.

Palavras-chave: Cultivo semi-sólido. Fenóis. Farelo de arroz. Chá verde. Erva-mate.

ABSTRACT: Agro-industrial waste is a source of carbon and nitrogen and acts as a support for fungal growth. This work aimed to apply agro-industrial residues to increase the production of phenolic compounds, through solid state fermentation. The substrates used were rice bran, green tea residue and yerba mate, in different proportions. The microorganism used was *Rhizopus Oryzae* CCT 7560 and the bioprocess occurred in tray-type reactors, during 7 days. After this period, the biomass was frozen and the total phenolic compounds extracted. The proportion of substrate most associated to cause an increase in the production of phenolic compounds was 5: 5 (rice bran: green tea), obtaining, under conditions, a content of 22.4 mg.g⁻¹ of phenolic compounds. Thus, solid state fermentation provided a 1.5-fold increase in the content of phenolic compounds, when compared to the control, whose initial value was 14.92 mg.g⁻¹.

Key words: Semi-solid cultivation. Phenols. Rice bran. Green tea. Yerba mate.

* Autor para correspondência

Recebido para publicação em 20/04/2021, aprovado em 05/06/2021

¹ Escola de Química e Alimentos – Universidade Federal do Rio Grande-FURG, curso de Engenharia Agroindustrial – Indústrias Alimentícias, campus Santo Antônio da Patrulha – CEP: 95500-000 – Santo Antônio da Patrulha – RS – Brasil, Telefone: (51) 3662-7808 – Fax: (51) 3662-7800 – e-mail:

livia.schmatz@hotmail.com

² Escola de Química e Alimentos – Universidade Federal do Rio Grande-FURG, curso de Engenharia Agroindustrial - Agroquímica, campus Santo Antônio da Patrulha – adriana-masson@outlook.com

³ Escola de Química e Alimentos – Universidade Federal do Rio Grande-FURG – mgustgund@gmail.com

⁴ Escola de Química e Alimentos – Universidade Federal do Rio Grande-FURG – guilhermeluly@hotmail.com

⁵ Escola de Química e Alimentos – Universidade Federal do Rio Grande-FURG, Programa de Pós-Graduação em Sistemas e Processos Agroindustriais, campus Santo Antônio da Patrulha – nandapagnu@gmail.com

INTRODUÇÃO

O Brasil é o terceiro maior exportador de produtos agrícolas do mundo, ou seja, o agronegócio possui um forte impacto na economia brasileira, participando da geração de renda e emprego, colocando o país num papel privilegiado no comércio mundial (ASSAD, 2012). No entanto, essa elevada produção ocasiona uma grande geração de resíduos agroindustriais. Para suprir essa demanda, faz-se necessário o desenvolvimento de estratégias ecologicamente viáveis e que permitam o reaproveitamento sustentável desses co-produtos gerados (PATEL et al., 2017).

A utilização de bioconversores têm sido alvo de diversos estudos recentes e, neste contexto, a fermentação em estado sólido (FES) se destaca como uma alternativa ao aproveitamento de resíduos (PATEL et al., 2017). Neste caminho, a FES está sendo adotada pela indústria biotecnológica para gerar produtos de alto valor agregado, devido ao potencial para produção de metabólitos secundários para indústrias de combustível, ração, alimentos, química e farmacêutica. Essa valorização dos resíduos agroindustriais como suportes nutricionais para a produção de bioprodutos oferece uma alternativa de diversificação de produtos para agricultores e para a agroindústria (SINGHANIA et al. 2009; SCHALCHLI et al., 2016).

A utilização de coprodutos e resíduos agroindustriais para realização de um bioprocessamento é explicada pelo fato dos mesmos serem fontes de carbono e nitrogênio, favorecendo o crescimento de microrganismos. O uso desses substratos em FES representa uma tentativa de reduzir os custos de produção e resolver problemas de poluição ambiental relacionados ao acúmulo ou má disposição desses resíduos (BOTELLA et al, 2007; KAMMOUN et al, 2008).

Um bioprocessamento cujo modo de cultivo é o sistema semi-sólido consiste no crescimento microbiano em ausência de água livre, sendo o meio constituído de uma matriz sólida. A água presente está ligada ao sólido no sistema, formando uma fina película sobre as partículas de meio. O material sólido é insolúvel e age como suporte físico e como fonte de nutrientes (STEUDLER, 2019).

Para ocorrer o bioprocessamento da FES, uma das classes mais promissoras de microrganismos são os fungos, devido ao seu crescimento através de hifas, que permite maior penetração dos micro-organismos entre as partículas e as regiões porosas do substrato, e também devido à variedade de produtos de seu metabolismo. Espécies em destaque para este tipo de procedimento são o *Aspergillus* e *Rhizopus*, que são considerados microrganismos GRAS (Generally Recognized as Safe – reconhecido como de uso seguro) pelo Food and Drug Administration (FDA), a Agência Reguladora de Alimentos dos Estados Unidos para a produção de alimentos (WOICIECHOWSKI et al., 2013).

Os substratos usados para fornecer os nutrientes necessários para que o micro-organismo selecionado consiga converter essas matérias-primas no produto de interesse geralmente são resíduos agroindustriais. Nesse trabalho, foram utilizados os resíduos de chá verde e erva-mate, além do farelo de arroz. O chá verde (*Camellia Sinenis*) e a erva-

mate (*Ilex paraguariensis*) possuem polifenóis (ácidos fenólicos, cumarinas, ligninas, taninos ou flavonoides), que formam uma das principais classes de metabólitos secundários de plantas e apresentam uma grande variedade de estruturas e funções (SÁ et al., 2007, BERTÉ, 2011). A casca e o farelo de arroz representam 30% da matéria prima processada e nesse sentido, a fermentação em estado sólido (FES) é um caminho alternativo para agregar valor a este material e diminuir possíveis problemas ambientais, produzindo substâncias de interesse para diferentes setores, como enzimas, hormônios, pigmentos, entre outros, contribuindo para uma maior diversificação do agronegócio nacional (BHAT, 2000).

Diante do exposto acima, este trabalho objetivou utilizar resíduos agroindustriais de chá verde, erva-mate e farelo de arroz como substrato para a fermentação em estado sólido, com o intuito de produzir biomassa fúngica rica em compostos fenólicos.

MATERIAL E MÉTODOS

O farelo de arroz foi obtido de uma indústria beneficiadora de Santo Antônio da Patrulha/RS, enquanto que o resíduo do chá verde e erva-mate foram obtidos após o seu consumo e secos a 60°C.

Para a realização da FES, o micro-organismo utilizado foi o fungo *Rhizopus oryzae* CCT 7560 que foi colocado em meio agar-batata-dextrose (BDA) durante 7 dias, para a obtenção da suspensão de esporos utilizada como inóculo.

A fermentação foi realizada em biorreatores de bandeja (10 g de substrato, constituído de farelo de arroz e chá verde, ou farelo de arroz e erva-mate, nas proporções 9:1, 7,5:2,5 e 5:5, respectivamente), distribuído em camadas de 2 cm e autoclavados a 121 °C durante 20 min. Após a esterilização, o meio foi suplementado com 4,5 mL de solução salina contendo (g L⁻¹): KH₂PO₄; MgSO₄; (NH₄)₂SO₄ e água destilada estéril para correção da umidade do sistema para 50%. O substrato foi inoculado com suspensão de esporos na concentração de 4x10⁶ esporos.g⁻¹ e após 7 dias, a 25 °C, obteve-se o composto de interesse. A comparação do incremento dos compostos fenólicos foi realizada com base na quantificação do tempo zero do processo (OLIVEIRA et al., 2010).

O conteúdo de fenóis totais foi determinado empregando-se o método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu a 750 nm, através de uma curva padrão de ácido gálico, com resultados expressos em mg.g⁻¹.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os vegetais possuem dois tipos de metabolismo, primário e secundário. No metabolismo primário ocorre uma série de processos capazes de garantir a sobrevivência do vegetal, através do consumo de proteínas, carboidratos e lipídios. Já os metabólitos secundários estão intimamente associados às estratégias de defesa das plantas (NASS, 2007). Além disso, por apresentarem atividade biológica contra herbívoros e microrganismos, muitos desses metabólitos são

utilizados como inseticidas e fungicidas (TAYS;ZEIGER, 2004). Os principais metabólitos secundários são distribuídos em três grupos, de acordo com sua rota biossintética: terpenos, compostos fenólicos e compostos contendo nitrogênio (TAYZ; ZEIGER, 2004; SILVA et al, 2010).

Esses metabólitos secundários tem sido alvo de pesquisas, especialmente os compostos fenólicos, pelo fato de apresentarem atividade antifúngica, cuja eficácia não depende somente da concentração do composto bioativo, mas também da sua estrutura, com capacidade de inibir os processos de degradação biológica endógena e exógena (PAGNUSSATT et al., 2012; FURLONG et al, 2020).

No presente trabalho, os resíduos agroindustriais selecionados como meio de cultivo durante o bioprocessamento possuem compostos fenólicos em sua composição, sendo naturalmente encontrados nas concentrações de 7,732 mg.g⁻¹, 0,57 mg.g⁻¹ e 16,810 mg.g⁻¹ para farelo de arroz, erva mate e chá verde.

Tabela 1 – Teor de compostos fenólicos (mg.g⁻¹) antes e após a fermentação em estado sólido com resíduos de farelo e chá verde.

Farelo: chá (g.g ⁻¹)	Compostos fenólicos* (mg.g ⁻¹)	
	Tempo zero	Tempo sete dias
9:1	11,358 ^d	8,075 ^{ef}
7,5:2,5	8,990 ^e	7,709 ^f
5:5	14,916 ^c	22,381 ^a
0:10	16,810 ^b	1,296 ^h
10:0	7,732 ^f	4,684 ^g

*Médias seguidas de letras minúsculas diferentes apresentam diferença significativa através do teste de Tukey a um nível de significância de 5%.

Além disso, as características granulométricas do farelo, chá e erva também podem ter contribuído, visto que o primeiro apresentou um tamanho de partícula maior, com 37,5% retidos na peneira de 590 µm facilitando a dissipação de calor pelo sistema (BORZANI et al., 2001); enquanto que o chá e a erva, com menor tamanho de partícula, pode ter favorecido o acesso do micro-organismo aos nutrientes, pois 33% da fração de chá verde ficou retida na peneira de 350 µm e 39% do resíduo de erva mate na peneira de 210 µm.

A hifa do fungo, após a esporulação, desenvolve um emaranhado micelial, podendo penetrar o substrato ou formar hifas aéreas. Próximo à superfície do substrato e entre poros, é onde ocorre a atividade metabólica, contudo regiões expostas do micélio (hifas aéreas), também mostram metabolismo e servem como transportadoras de substâncias para as hifas penetrativas. A penetração das hifas nas partículas sólidas aumenta o contato e a disponibilidade dos substratos macromoleculares, bem como a assimilação e metabolização dos produtos, e ocorre de forma coordenada ao crescimento, pois os metabólitos excretados pelos microrganismos é que permitem a penetração. (HÖLKER; LENZ, 2005).

Na fermentação em estado sólido, vários fatores são decisivos para a produção do bioproduto desejado, tais como: umidade, temperatura de incubação, pH, o período de fermentação, substratos, aeração, agitação e nutrientes adicionais que afetam significativamente o crescimento celular e a formação de produtos (SANTOS, 2007). Segundo Santos et al., (2005) e Pinto et al., (2006), nem sempre o meio que permite o melhor desenvolvimento microbiano favorece a formação de produtos, dessa forma, se faz necessário a realização de análises que devem estar relacionadas com as variáveis que irá afetar o bioprocessamento em questão. Para avaliar esses efeitos, as diferentes proporções de resíduos foram avaliadas (Tabela 1) e a condição mais adequada para ocasionar um aumento da produção de compostos fenólicos foi a 5:5 (farelo:chá), mostrando que a concentração do substrato afetou a via bioquímica que desencadeia a formação desses metabólitos secundários, que estão intimamente ligados às estratégias de defesa das plantas (SILVA et al., 2010; SCHMATZ et al, 2019).

Embora não tenham sido encontrados na literatura pesquisada estudos sobre os resíduos de chá verde e erva mate especificamente, Oliveira, 2012 encontrou a concentração de compostos fenólicos totais em FES utilizando farelo de arroz igual a 0,11 mg ácido gálico/g farelo no tempo zero e 0,16 mg ácido gálico/g farelo no tempo de 5 dias. Este aumento de concentração de compostos fenólicos ao decorrer do tempo também foi evidenciado na proporção de 5:5, o que indica que foi liberado compostos fenólicos durante a FES, sugerindo que os fenóis são produtos da degradação de resíduos utilizados como substratos (GARCÍA et al., 2015).

García, 2015 realizou estudos de quantificação no teor de compostos fenólicos em FES utilizando resíduos de café como substrato e encontrou a concentração de 54,75 mg ácido gálico/g resíduo em extrato aquoso, sendo este valor de concentração superior ao encontrado nos resíduos de chá verde e erva mate.

A produção de compostos fenólicos a partir do farelo de arroz e da erva mate ocorreu, mas os valores encontrados foram bem inferiores (Tabela 2), quando comparados com a mistura de farelo de arroz e chá verde. Percebeu-se que o teor

de compostos fenólicos presentes na erva-mate é bem menor do que no chá verde. Sendo assim, a erva-mate não foi capaz de agir como indutor para o incremento da produção de

compostos fenólicos, nas condições aplicadas nestes experimentos.

TABELA 2. Teor de compostos fenólicos (mg.g⁻¹) antes e após a fermentação em estado sólido com resíduos de farelo e erva mate

Farelo: erva (g.g ⁻¹)	Compostos fenólicos (mg.g ⁻¹)	
	Tempo zero	Tempo sete dias
9:1	1,39 ^d	1,98 ^c
7,5:2,5	4,34 ^a	4,59 ^a
5:5	4,62 ^a	3,86 ^b
0:10	0,57 ^e	1,41 ^d
10:0	2,08 ^c	3,31 ^b

*Médias seguidas de letras minúsculas diferentes apresentam diferença significativa através do teste de Tukey a um nível de significância de 5%.

CONCLUSÕES

O uso de farelo de arroz e chá verde como substrato para a produção de compostos fenólicos através de uma fermentação em estado sólido apresentou-se promissor, com destaque para a proporção de 5:5 (farelo: chá verde), que possibilitou a obtenção de 22,4 mg.g⁻¹ de compostos fenólicos, totalizando um incremento de 1,5 vezes na quantidade inicial do bioproduto de interesse.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Rio Grande – FURG e ao CNPQ pela oportunidade de realização desse trabalho.

REFERÊNCIAS

ASSAD, E. D.; MARTINS, S. C.; PINTO, H. P. Sustentabilidade no agronegócio brasileiro. Coleção de Estudos sobre diretrizes para uma economia verde no Brasil. Fundação Brasileira para o Desenvolvimento Sustentável, 2012. 51p.

BERTÉ, K.A.S. Tecnologia da erva-mate solúvel. Tese doutorado (Setor de Tecnologia, Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2011.

BHAT, N. K. Cellulase and related enzymes in biotechnology. *Biotechnology Advances*, v. 18, p. 355-383, 2000.

BORZANI, W., AQUARONE, E., SCHEINIDELL, W., LIMA, U.A. *Biotecnologia industrial. Biotecnologia na produção de alimentos*, v.IV, p.465-489, 2001.

BOTELLA, C., DIAZ, A., ORY, I. WEBB, C., BLANDINO. Xilanase and pectinase production by *Aspergillus awamori* on grape pomace in solid state fermentation. *Process Biochemistry*, v. 42, n. 1, p.98-101, 2007.

FURLONG, E. B.; FURLONG, V.B.; KUPSKI, L.; SCAGLIONI, P. T.; DENARDI, T.; CHRIST-RIBEIRO, A.; Use of natural resources from Southern Brazil as a strategy to mitigate fungal contamination. *Critical reviews in food science and nutrition*, v. 1, p. 1-8, 2020.

GARCÍA, L. R. P.; Avaliação da influência da fermentação Fúngica em estado sólido na obtenção de Compostos fenólicos a partir de resíduos de Café. Tese de doutorado em Engenharia e Ciência de Alimentos, UNESP, São José do Rio Preto, 2015.

GARCÍA, L. R. P.; DEL BIANCHI, V. L.; Efeito da fermentação fúngica no teor de compostos fenólicos em casca de café robusta. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 36, n. 2, p. 777-786, 2015.

HOLKER, U.; LENZ, J. Solid-state fermentation – are there any biotechnological advantages? *Current Opinion in Microbiology*, v.8, p.301–306, 2005.

KAMMOUN, R., NAILI, B., BEJAR, S. Application of a statistical design to the optimization of parameters and culture medium for α -amylase production by *Aspergillus oryzae* CBS

- 819.72 grown on gruel (wheat grinding by-product). *Bioresource Technology*, v. 99, p. 5602–5609, 2008.
- NASS, L. L. Recursos genéticos vegetais. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos Vegetais e Biotecnologia. 2007.
- OLIVEIRA, M. S.; CIPOLATTI, E. P.; FURLONG, E. B.; SOARES, L. S.; Eixo Tecnológico de Produção Alimentícia, Institut Ciênc. Tecnol. Aliment. vol.32 no.3 Campinas. 2012.
- OLIVEIRA, M. S.; KUPSKI, L.; FEDDERN, V.; CIPOLATTI, E. P.; BADIALE-FURLONG, E.; SOUZA-SOARES, L. A.; et al. Physicochemical characterization of fermented rice bran biomass. *CyTA–J. of Food*. V. 8: 229–236, 2010.
- PAGNUSSATT, F.A.; KUPSKI, L.; DARLEY, F.T.; FILODA, P.F.; DEL-PONTE, E.M.; GARDA-BUFFON, J.; BADIALE-FURLONG, E. Fusarium graminearum growth inhibition mechanism using phenolic compounds from *Spirulina* sp. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 32 (Supl. 1): 1-6, p. 75-80, 2012.
- PATEL, S.; SHUKLA, S. Fermentation of Food Wastes for Generation of Nutraceuticals and Supplements. In: *Fermented Foods in Health and Disease Prevention*. [s.l.] Elsevier, p. 707–734, 2017.
- PINTO, G. A. S.; BRITO, E. S.; SILVA, F. L. H.; SANTOS, F. S. M.; MACEDO, G. R. Fermentação em estado sólido: Uma alternativa para o aproveitamento e valorização de resíduos agroindustriais. *Revista de Química Industrial*, v.74, p.17-20, 2006.
- SÁ, R. S.; TURELLA, T. K. Os efeitos dos polifenóis: catequinas e flavonoides da *Camellia sinensis* no envelhecimento cutâneo e no metabolismo dos lipídeos. 2007.
- SANTOS, S. F. M.; NOBREGA, J. E.; PINTO, G. A. S.; MACEDO, G. R.; SILVA, F. L. H. Caracterização do resíduo seco do pedúnculo do caju visando sua utilização como substrato para fermentação semissólida. In: XV Simpósio Brasileiro de Bioprocessos. Recife, 2005.
- SCHALCHLI, H. et al. Production of ligninolytic enzymes and some diffusible antifungal compounds by white-rot fungi using potato solid wastes as the sole nutrient source. *International Journal of Laboratory Hematology*, v. 38, n. 1, p. 42–49, 2016.
- SCHMATZ, L.O., PARCIANELLO, A.M., GUND, M. V.G. Efeito da Fermentação em Estado Sólido na produção de Compostos Fenólicos. In 18º Mostra da Produção Universitária, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, Brasil, 2019.
- SILVA, M.L.C.; COSTA, R.S.; SANTANA A.S.; KOBLITZ, M.G.. Phenolic compounds, carotenoids and antioxidant activity in plant products v. 31, n. 3, p. 669-682, 2010.
- STEUDLER, S. *Solid State Fermentation*. 1. Ed. Cham: Springer International Publishing. p. 169. 176, 2019.
- TAYZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia vegetal*. 3. ed. Porto Alegre: Artmed. 2004.
- WOICIECHOWSKI, A. L.; CARVALHO, J. C.; SPIER, M. R.; HABU, S.; YAMAGISHI, C.T.; GHIGGI, V.; SOCCOL, C. R.; Emprego de Resíduos Agroindustriais em Bioprocessos Alimentares. In BICAS, J. L.; JÚNIOR, M. R.; PASTORE, G. M. (eds.). *Biotecnologia de alimentos*. Atheneu Editora (pp 30), 2013. cap. 6, p.143-171.
- SINGHANIAA, R. R.; PATEL, A. K.; SOCCOL C.R.; PANDEY, A.; Recent advances in solid-state fermentation. *Biochemical Engineering Journal* v.44, p. 13-18, 2009.