

Crescimento de rizobactérias em meio de cultura usando o mesocarpo do babaçu (*Orbignya phalerata* Mart) como fonte de carbono para fins biotecnológicos

Costa T.P.¹, Menezes N.C.², Oliveira L.A.¹

¹ Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia
Agricultura no Trópico Úmido.
naramenezes19@hotmail.com, luizoli@inpa.gov.br

² Tecnóloga em Petróleo e Gás, Mestre em
Emails: tatiana.paulain@gmail.com,

Resumo

O Brasil é o maior produtor, consumidor e exportador de etanol, usando quase que exclusivamente, a cana-de-açúcar. Na sua entressafra as usinas estão procurando usar espécies que contêm amido, para que possam produzir álcool o ano inteiro. Na Amazônia, onde o babaçu (*Orbignya phalerata* Mart) tem ocorrência espontânea em suas matas, essa palmeira pode ser uma alternativa econômica e socialmente viável para essa finalidade, devido ao alto teor de amido no mesocarpo de seus frutos. Micro-organismos podem ser usados para a conversão dos componentes do mesocarpo, convertendo-o em produtos de valor econômico, como o etanol. Portanto, este trabalho teve como objetivo, selecionar rizobactérias capazes de utilizar o mesocarpo do babaçu como fonte de carbono para fins biotecnológicos. Para isso foram testadas 40 rizobactérias em meio YMA, no qual se substituiu o manitol pela farinha do babaçu, verificando a capacidade desses micro-organismos em degradá-la, avaliando seu crescimento. Os resultados mostraram que 23 atingiram notas acima de 3,0 até o décimo quinto dia de crescimento, indicando que usam eficientemente, a farinha do babaçu para seus crescimentos. Dessas, 17 mostraram altas capacidades de degradar a farinha já no terceiro dia de crescimento (notas acima de 3,0), indicando serem as melhores para futuros testes visando a obtenção de produtos biotecnológicos de valores econômicos, usando a farinha do babaçu como fonte de crescimento. Elas foram identificadas como INPA R178, R234, R236, R262, R266, R268, R276, R277, R278, R279, R285, R288, R296 e R298.

Palavras-chave: Metabolismo microbiano, farinha de babaçu, microbiota amazônica.

Introdução

O Brasil é o maior produtor, consumidor e exportador de etanol, com a sua produção atingindo 28,6 bilhões de litros em 2014 (Estadão, 2015). Devido a isto, há uma necessidade maior em investimentos em pesquisas a fim de encontrar outras biomassas potenciais para a produção deste bioproduto (Lima, 1975; Bermann, 2008).

Diversas são as fontes propícias para a sua produção, entre elas, encontra-se o babaçu, cuja farinha do mesocarpo apresenta cerca de 50-70% de amido (Peixoto, 1973; Zuniga *et al.*, 2013). Para que ocorra a conversão deste composto em etanol é necessário que este seja hidrolisado e desta forma convertido em açúcares, podendo ser por hidrólise ácida ou enzimática, ambas com a mesma finalidade de reduzi-lo a monossacarídeos (Collares, 2011). Para isso são necessárias enzimas de interesse econômico, como amilases, que já foram encontradas em isolados de rizobactérias, tais como as do gênero *Rhizobium* (Oliveira *et al.*, 2006, 2007).

O babaçu (*Orbignya phalerata* Mart.) é um tipo de palmeira que frutifica durante todo o ano e seu fruto é utilizado para diversos fins, como na fabricação de farinha e óleo comestível, produção de carvão e, etanol a partir do seu mesocarpo. É nativo da zona de transição entre o cerrado e as florestas abertas do sul da Amazônia com grandes extensões (cerca de 17 milhões de hectares) (Holanda, 2004; Clement, 2005). É uma palmeira bastante atrativa no setor energético de sustentabilidade, por apresentar várias características favoráveis em relação à produção de biocombustível. Portanto, este trabalho teve como objetivo, selecionar rizobactérias capazes de usar o mesocarpo do babaçu como fonte de carbono para fins biotecnológicos.

Material e Métodos

Foram obtidos 40 isolados de rizobactérias da coleção bacteriana do Laboratório de Ecologia e Biotecnologia de Micro-organismos da Amazônia, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (LEBMAM/INPA). Estes isolados foram testados em meio YMA (Extrato de levedura, manitol e ágar), no qual se substituiu o manitol pela farinha do babaçu. A matéria-prima utilizada foi a farinha do mesocarpo do babaçu, proveniente do Município de Rio Preto da Eva/AM. Para a avaliação do teste de crescimento, os isolados foram estriados em placas de Petri contendo o meio anteriormente citado e avaliados por um período de 15 dias. Para cada isolado foram realizadas quatro repetições, usando as notas de 1,00 (sem crescimento visível na zona 1) a 4,00 (máximo crescimento na zona 4) (Figura 1), segundo o método de Oliveira e Magalhães (1999),

podendo ser atribuídas notas intermediárias, subdivididas em 0,25, ou seja, 1,00, 1,25, 1,50, 1,75, 2,00 e etc., até 4,00 (Figura 1), aumentando assim a precisão do método. As avaliações foram realizadas a cada três dias, num total de quinze dias, sendo considerados de baixo crescimento, os isolados que apresentaram valores de 1,00 a 2,00, crescimento mediano os com notas entre 2,06 a 3,00 e, crescimentos elevados, os com valores de 3,06 a 4,00.

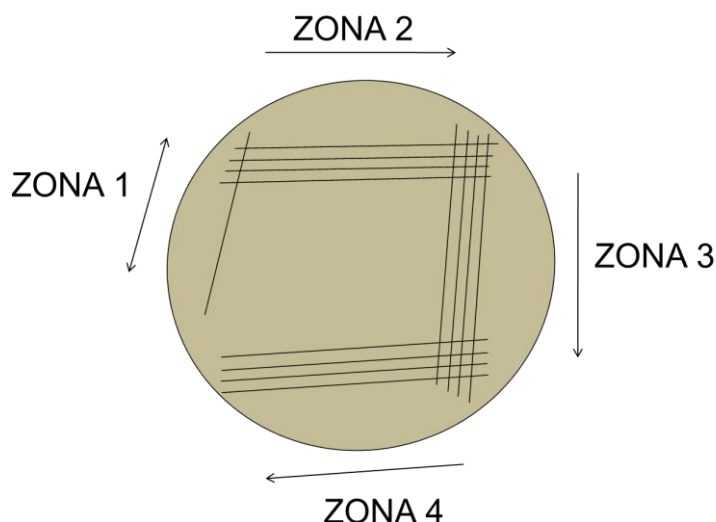


Figura 1. Ilustração do método de estriagem proposto por Oliveira e Magalhães (1999).

Resultados e Discussão

Sob as condições testadas em laboratório a uma temperatura média de 27°C, a maioria dos isolados apresentou crescimento mediano ou elevado (Tabela 1). Os resultados mostraram que 23 atingiram notas acima de 3,0 até o décimo quinto dia de crescimento, indicando que usam eficientemente, a farinha do babaçu para seus crescimentos. Dessas, 17 mostraram altas capacidades de degradar a farinha já no terceiro dia de crescimento (notas acima de 3,0), indicando serem as melhores para futuros testes visando a obtenção de produtos biotecnológicos de valores econômicos, usando a farinha do babaçu como fonte de crescimento. Elas foram identificadas como INPA R178, R234, R236, R262, R266, R268, R276, R277, R278, R279, R285, R288, R296 e R298. Segundo Oliveira e Magalhães (1999), as bactérias que crescem mais rapidamente no meio de cultura, atingindo as notas máximas já nos primeiros dias de crescimento, são as mais promissoras, pois conseguem usar os componentes do meio com mais eficiência.

Tabela 1- Crescimento de rizobactérias em meio de cultura contendo farinha de babaçu.

Isolados	Média dos isolados (dias)				
	3	6	9	12	15
INPA_R001	1.00	1.25	1.25	1.25	1.25
INPA_R020	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
INPA_R028	2.25	2.25	2.25	2.25	2.25
INPA_R178	3.07	3.20	3.80	4.00	4.00
INPA_R233	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
INPA_R234	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
INPA_R236	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
INPA_R260	1.20	1.80	4.00	4.00	4.00
INPA_R261	1.20	2.20	3.70	3.70	3.70
INPA_R262	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
INPA_R263	1.20	2.00	4.00	4.00	4.00
INPA_R264	1.15	1.50	1.70	1.70	1.70
INPA_R265	1.50	3.70	4.00	4.00	4.00
INPA_R266	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
INPA_R267	1.15	1.50	2.00	2.00	2.00
INPA_R268	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
INPA_R270	1.25	1.50	1.50	1.50	1.50
INPA_R272	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25
INPA_R273	1.15	1.25	1.50	1.50	1.50
INPA_R274	1.25	1.50	2.00	2.00	2.00
INPA_R275	1.15	1.15	1.15	1.15	1.15
INPA_R276	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
INPA_R277	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
INPA_R278	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
INPA_R279	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
INPA_R280	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
INPA_R282	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
INPA_R284	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
INPA_R285	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
INPA_R287	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
INPA_R288	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
INPA_R289	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
INPA_R290	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
INPA_R291	1.50	2.75	3.00	4.00	4.00
INPA_R292	3.00	4.00	4.00	4.00	4.00
INPA_R294	2.25	2.75	2.75	2.75	2.75
INPA_R295	1.15	1.75	1.75	1.75	1.75
INPA_R296	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
INPA_R297	2.06	4.00	4.00	4.00	4.00
INPA_R298	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00

A figura 2 mostra uma rizobactéria crescendo em uma placa de petri contendo farinha de babaçu em substituição ao manitol e usando os demais componentes do meio YMA segundo Vincent (1970). Observa-se que essa rizobactéria mostra um crescimento elevado, com a zona 4 quase totalmente preenchida com crescimento, pela qual, usando os critérios estabelecidos por Oliveira e Magalhães (1999), apresenta nota 3,75.

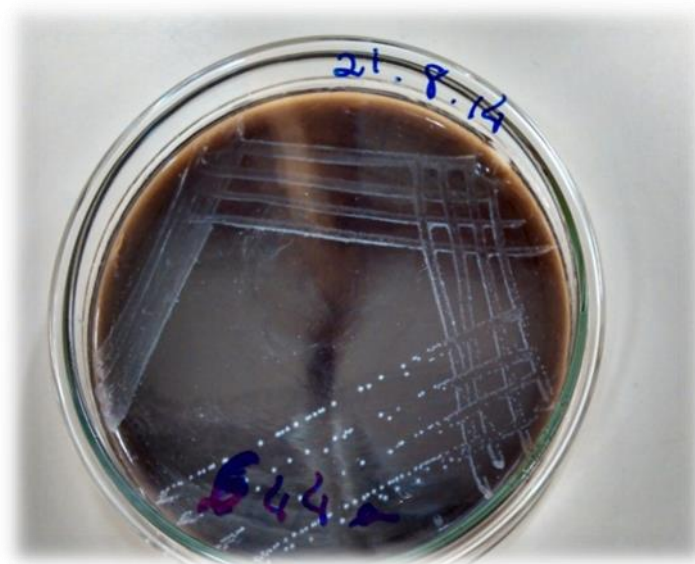


Figura 2. Rizobactéria crescendo em meio de cultura contendo farinha de babaçu e mostrando nota 3,75.

Conclusões

A maioria das 40 rizobactérias testadas em meio de cultura contendo farinha de babaçu apresentou crescimento mediano ou elevado.

As 17 rizobactérias que mostraram crescimentos elevados já no terceiro dia foram as identificadas por INPA R178, R234, R236, R262, R266, R268, R276, R277, R278, R279, R285, R288, R296 e R298.

Essas rizobactérias mostraram potencial para serem usadas em estudos futuros visando transformar a farinha do babaçu em bioprodutos de valor econômico desejável.

Referências

Bermann, C. (2008). Crise ambiental e as energias renováveis. *Cienc. Cult.* 60(3):20-29.

Clement C.R., Lheras P.E., Van Leeuwen L.J. (2005). O potencial das palmeiras tropicais no Brasil: Acertos e fracassos das últimas décadas. *Agrociências*, 9(1-2):67-71.

Collares, M.R. (2011). *Otimização do processo de hidrólise da mandioca "In natura", com o uso de enzimas Amilolíticas e Pectinolíticas*. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Santa Maria- Programa de Pós Graduação em Engenharia de Processos, Rio Grande do Sul.

Estadão. 2015. Produção de etanol no Brasil atinge recorde de 28,6 bi de litros em 2014. <http://economia.estadao.com.br/noticias/geral,producao-de-etanol-no-brasil-atinge-recorde-de-28-6-bi-de-litros-em-2014,1696115>.

Holanda A. (2004). Biodiesel e inclusão social. Brasília: Câmara dos Deputados, Coordenação de Publicações – Série Cadernos de altos estudos; n.1. pg. 13-57.

Lima U.A. (1975). *Produção do Etanol. Tecnologia das Fermentações*. São Paulo, Edgard Bücher. .pg.48-68.

Oliveira L.A., Magalhães H.P. (1999). Quantitative evaluation of acidity tolerance of root nodule bacteria. *Revista de Microbiologia*, 30:203-208.

Oliveira, AN; Oliveira, LA; Andrade, JS. 2006. Enzimas hidrolíticas extracelulares de isolados de rizóbia nativos da Amazônia Central, Amazonas, Brasil. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* , Campinas, 26(4): 853-860.

Oliveira, AN, Oliveira, LA, Andrade, JS. (2007). Produção de amilase por rizóbios, usando farinha de pupunha como substrato. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, 27: 61-66.

Peixoto, A.R. (1973). Plantas Oleaginosas Arbóreas. Biblioteca Rural. Ed. Nobel S.A. In: Teixeira, M.A. Biomassa de babaçu no Brasil. Departamento de Energia – FEM – São Paulo: Unicamp.

Zuniga A.D.G., Fronza P., Silveira M.R., Moura J.S., Edwin Elard Garcia Rojas E.E.G. (2013). Hidrólise ácida da farinha do mesocarpo do coco babaçu visando a obtenção de bioetanol. *Enciclopédia Biosfera*. Centro Científico Conhecer - Goiânia, 9(17):3549-3555,