



XXI Congresso Brasileiro
de Engenharia Química

Fortaleza/CE
25 a 29 de setembro



XVI Encontro Brasileiro sobre o
Ensino de Engenharia Química
Fortaleza/CE
25 a 29 de setembro

SELEÇÃO DE BACTÉRIAS LÁCTICAS PARA REAPROVEITAMENTO DE RESÍDUOS DE CAMARÃO

G. O. SILVA¹, J. C. M. XIMENES¹, L. H. RIBEIRO¹, D. HISSA¹, M. P. V. ROCHA² e V. M.M. MELO¹

¹ Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Departamento de Biologia

² Universidade Federal do Ceará, Centro de Tecnologia, Departamento de Engenharia Química
E-mail para contato: gabrielly.os@hotmail.com

RESUMO – *O Ceará é o maior produtor de camarão com, aproximadamente, 50% de toda a produção nacional, portanto, é também o que mais gera resíduos, desde que 40% do peso do camarão se transformam em resíduos. Considerando que esses resíduos são ricos em quitina, proteínas, pigmentos e minerais, seu aproveitamento representa uma alternativa econômica e ambientalmente atraente. Este estudo teve como objetivo avaliar a viabilidade técnica da fermentação semissólida de resíduos de camarão por um consórcio selecionado de bactérias lácticas usando sacarose como fonte de carbono. Com base na análise dos parâmetros cinéticos da fermentação, o consórcio formado pelas estirpes *Lactobacillus futsaii* e *L. plantarum* Lact614 se destaca pela alta produção de ácido láctico (100 g.L^{-1}) e máxima acidificação do meio em 48 h, o que favorece a desmineralização do exoesqueleto do camarão, que juntamente com a desproteíntização enzimática, leva à recuperação de constituintes presentes nos resíduos, principalmente quitina e um líquido rico em proteínas, pigmentos e minerais, produtos de valor comercial. Portanto, é tecnologicamente viável processar resíduos de camarão por fermentação láctica usando Lact614.*

1. INTRODUÇÃO

A carcinicultura é o segmento da aquicultura que mais cresce no mundo. No estado do Ceará a produção passou de, aproximadamente, 530 toneladas em 1997 para 32.000 toneladas em 2011 (ABCC, 2013). Considerando que 40 a 50% do peso total do camarão beneficiado se transformam em resíduos, tem-se uma noção da quantidade de resíduo gerado anualmente. A disposição inadequada desses resíduos altamente perecível caracteriza um sério problema ambiental para os municípios produtores (Bhaskar *et al.*, 2007). O exoesqueleto do camarão contém quitina, proteínas, pigmentos carotenoides e minerais, portanto, o aproveitamento desses resíduos para recuperação desses constituintes desponta como uma alternativa inovadora e rentável para reduzir a poluição ambiental (Carvalho, 2010; Songsiriritthigul *et al.*, 2010; Ghorbel-Bellaaj *et al.*, 2013).

Os constituintes do exoesqueleto do camarão podem ser recuperados por tratamento com ácidos e bases fortes que promovem a sua desmineralização e desproteíntização, respectivamente, liberando

PROMOÇÃO

REALIZAÇÃO

ORGANIZAÇÃO





XXI Congresso Brasileiro
de Engenharia Química

Fortaleza/CE
25 a 29 de setembro



XVI Encontro Brasileiro sobre o
Ensino de Engenharia Química
Fortaleza/CE
25 a 29 de setembro

seus constituintes que podem ser posteriormente purificados. Vários estudos têm provado o valor da fermentação láctica para o reaproveitamento de resíduos da aquicultura (Cira et al., 2002; Oh et al., 2007; Prameela et al., 2010; Duan et al., 2012). Segundo este método, o ácido láctico reage com o carbonato de cálcio ligado à quitina levando a formação de lactato de cálcio, que precipita e pode ser removido por lavagem, deixando a quitina livre. A desproteíntização ocorre pela ação combinada de enzimas proteolíticas da cultura láctica e de proteases do camarão. Pigmentos e proteínas são extraídos juntos e compõem o líquido resultante da fermentação, podendo ser subsequentemente separados por métodos químicos.

A maioria das linhagens de bactérias lácticas exigem nutrientes complexos para o seu crescimento, assim os resíduos de camarão surgem como uma fonte rica e complexa em nutrientes, capaz de suprir as demandas nutricionais desses micro-organismos (Sánchez-Camargo et al., 2011; Abdel-Rahman, Tashiro; Sonomoto, 2013).

2. OBJETIVO

Este estudo teve por objetivo selecionar estirpes de bactérias lácticas e comparar a eficiência dessas estirpes isoladamente e em consórcio para a fermentação semissólida de resíduos de camarão baseada na análise de parâmetros cinéticos.

3. METODOLOGIA

3.1. Bactérias Lácticas

As estirpes de bactérias lácticas usadas neste trabalho foram previamente isoladas de diferentes amostras ambientais (Carvalho, 2010) e encontram-se estocadas na bacterioteca do Laboratório de Ecologia Microbiana e Biotecnologia (LEMBIOTECH) do Departamento de Biologia, Universidade Federal do Ceará. As estirpes avaliadas foram: *Lactobacillus futsaii* Lact06, *L. plantarum* Lact07, *L. plantarum* Lact08, *L. plantarum* Lact09, *L. plantarum* Lact14 e *Pediococcus acidilactici* Lact11. Essas culturas estão mantidas em freezer -80 °C em Caldo MRS (Man; Rogosa; Sharpe, 1960) com 20% de glicerol.

3.2. Resíduos da carcinicultura

Os resíduos usados nesse estudo foram constituídos de cabeças de camarão da espécie *Litopenaeus vannamei*, doados pelo frigorífico Cajucoco Aquicultura e Agroindústria, Fazenda Santa Rita, Acaraú, Ceará. Esses resíduos foram mantidos congelados até o momento do uso.

3.3. Cálculo de rendimento e parâmetros cinéticos da fermentação láctica em meio MRS modificado

Os dados obtidos experimentalmente (concentração de biomassa, consumo de substrato e concentração do produto) foram utilizados na determinação dos parâmetros cinéticos da fermentação: produtividade volumétrica de ácido láctico (Q_p , g.L⁻¹.h⁻¹), as conversões de açúcar em ácido láctico

PROMOÇÃO

REALIZAÇÃO

ORGANIZAÇÃO





XXI Congresso Brasileiro
de Engenharia Química

Fortaleza/CE
25 a 29 de setembro



XVI Encontro Brasileiro sobre o
Ensino de Engenharia Química
Fortaleza/CE
25 a 29 de setembro

Y_p/s ($g \cdot g^{-1}$), de substrato consumido em biomassa Y_x/s ($g \cdot g^{-1}$) e de ácido láctico em biomassa Y_x/p ($g \cdot g^{-1}$).

3.4. Fermentação láctica de resíduos de camarão

Para a fermentação, as estirpes de bactérias lácticas foram retiradas do estoque no *freezer* $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ e inoculadas em 10 mL do meio MRS modificado, contendo sacarose ($20\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) como fonte de carbono, por 16 h. Após esse tempo, as culturas foram transferidas para ágar MRS modificado e crescidas por 48 h a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, para a obtenção de colônias isoladas. Três colônias isoladas foram transferidas para Erlenmeyers contendo 10 mL de meio MRS modificado e esses frascos foram incubados a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ com agitação de 150 rpm por 16 h. As culturas tiveram suas absorvâncias ajustadas para 0,1 em espectrofotômetro a 600 nm, o que correspondeu a uma densidade de 1×10^7 unidades formadoras de colônias ($\text{UFC} \cdot \text{mL}^{-1}$). A fermentação semissólida foi conduzida em reator de aço inoxidável horizontal com capacidade para 5 kg, preenchido com 2 kg de resíduos de cabeça de camarão finamente triturados. Aos resíduos foram adicionados 10% de sacarose (m/m) e 5% de inóculo (v/m). Após mistura dos ingredientes, o reator foi fechado e mantido estático, à temperatura ambiente por 48h, com agitação ocasional através de uma manivela.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Cálculo de rendimento e parâmetros cinéticos da fermentação láctica em meio MRS modificado

Os resultados dos parâmetros cinéticos e do rendimento da fermentação láctica em meio MRS modificado foram utilizados para selecionar as melhores estirpes de bactérias lácticas para utilização subsequente na fermentação de resíduos de camarão.

A produção máxima de células ($X_{\text{máx}}$), de ácido láctico ($P_{\text{máx}}$) e as melhores produtividades foram alcançadas pelas estirpes Lact07, Lact11 e Lact14. Em relação às taxas de conversão de substrato em biomassa, e biomassa em produto, Lact07, Lact09 e Lact14 apresentaram os resultados mais expressivos. A linhagem Lact06, apesar de apresentar a menor produtividade (seguida pela Lact09) apresentou as melhores taxas de conversão Y_p/x e de Y_x/s com valores de 3,3 e $0,36\text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$, respectivamente. Lact11 apresentou os melhores dados de rendimento ($X_{\text{máx}}$ e $P_{\text{máx}}$), porém os piores resultados para Y_p/x ($1,99\text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$) e Y_x/s ($0,66\text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$), assim como Lact08.

Sendo assim, Lact06, Lact07 e Lact14 foram selecionadas como as estirpes mais promissoras para serem testadas consorciadas para fermentação de resíduos de camarão.

PROMOÇÃO

REALIZAÇÃO

ORGANIZAÇÃO



Tabela 1 - Parâmetros cinéticos e de rendimento da fermentação láctica em Caldo MRS contendo sacarose (20g.L^{-1}) como fonte de carbono.

Parâmetros	Bactérias Lácticas					
	Lact06	Lact07	Lact08	Lact09	Lact11	Lact14
$\mu_{\text{máx}}$ (h^{-1})	0,07	0,07	0,08	0,07	0,08	0,07
$X_{\text{máx}}$ (g.L^{-1})	2,91	6,38	5,91	6,15	6,38	6,75
$P_{\text{máx}}$ (g.L^{-1})	10,93	19,14	18,94	16,99	20,24	19,95
$Y_{\text{p/x}}$ (g.g^{-1})	3,32	2,25	2,12	2,60	1,99	2,37
$Y_{\text{x/s}}$ (g.g^{-1})	0,36	0,51	0,59	0,43	0,66	0,47
$Y_{\text{p/s}}$ (g.g^{-1})	1,20	1,15	1,26	1,12	1,31	1,13
Produtividade ($\text{g.L}^{-1}\text{h}^{-1}$)	0,45	0,87	0,78	0,71	0,84	0,83

4.2. Desempenho dos consórcios na fermentação das cabeças de camarão

Os consórcios foram preparados misturando-se volumes iguais das culturas de bactérias lácticas com absorbâncias ajustadas para 0,1 a 600 nm. As seguintes combinações foram testadas: Lact06 e Lact07 (L67), Lact06 e Lact14 (L614) e Lact06, Lact07 e Lact14 (L6714). Lact06 foi também utilizada isoladamente como controle, tendo em vista ter sido demonstrado previamente que se tratava de uma estirpe excelente produtora de ácido láctico (Carvalho, 2010).

A Figura 1 resume o consumo médio final de sacarose durante a fermentação. Em média todas consumiram aproximadamente 83 g.L^{-1} . Até 32h de fermentação o consumo de substrato foi bastante diferente entre as culturas, sendo observado que o consórcio L614 foi o que mais consumiu açúcar. Após esse período, o perfil de consumo foi semelhante entre os consórcios e o controle.

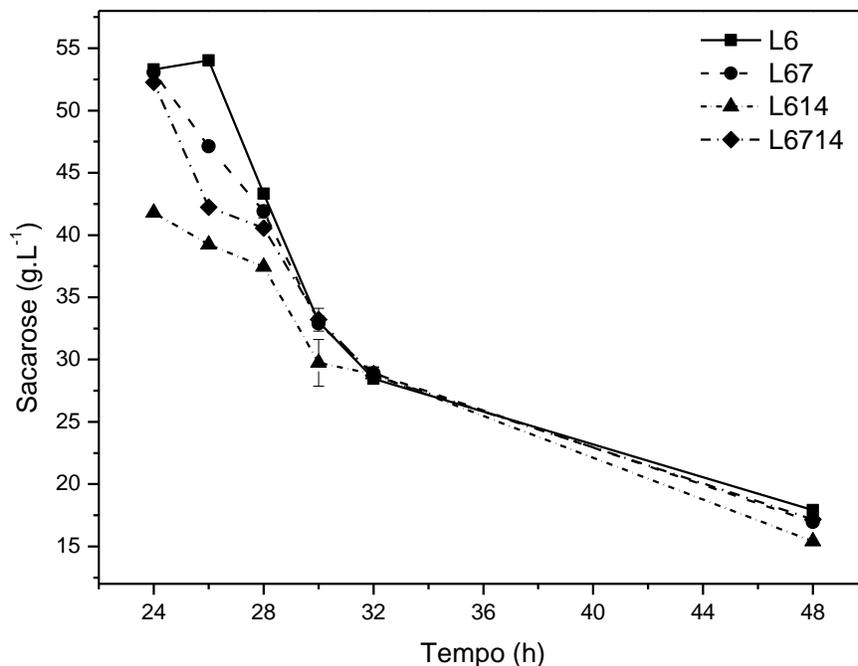


Figura 1 - Consumo de sacarose (g.L^{-1}) dos consórcios e controle ao longo da fermentação.

Com relação a produção de ácido láctico, com 24 h Lact06 se destaca das demais, produzindo $47,8 \text{ g.L}^{-1}$, seguida pelos consórcios L67 com produções de $42,7 \text{ g.L}^{-1}$ e L6714 com 40 g.L^{-1} e na retaguarda ficou o consórcio L614 com produção de apenas $23,4 \text{ g.L}^{-1}$. Com 32h os consórcios Lact67 e Lact614 alcançam Lact06 na produção de ácido láctico, com valores próximos de 80 g.L^{-1} . Após 32h os consórcios passam a produzir mais ácido láctico do que o controle Lact06, tendo Lact614 se destacado com a produção final de 100 g.L^{-1} . Essa produção de ácido láctico foi suficiente para baixar o pH do meio para 4,3, rendendo 88,6% de desmineralização e 84,8% de desproteíntização dos resíduos dentro de 48h, resultado melhor do que aquele obtido por Cira et al. (2002). Como produtos finais do processo fermentativos tem-se quitina e um líquido rico em proteínas, pigmentos e minerais.

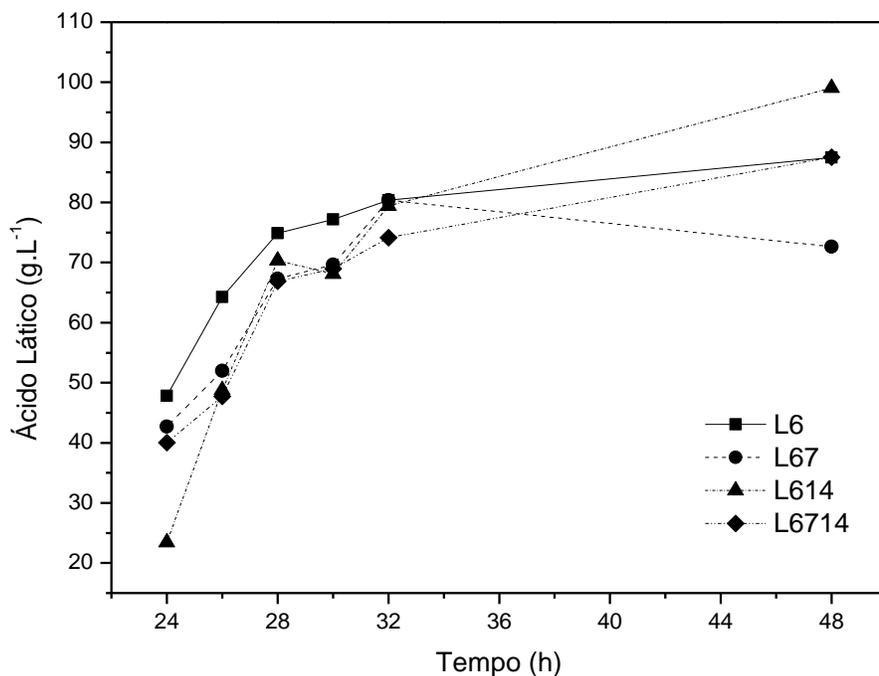


Figura 2 - Produção de ácido láctico (g.L⁻¹) por consórcios de bactérias lácticas ao longo da fermentação de resíduos de camarão.

Do ponto de vista comercial, considera-se promissora uma estirpe de bactéria láctica capaz de produzir mais do que 100 g.L⁻¹ de ácido láctico em um curto período de tempo (Litchfield, 2009; Abdel-Rahman, Tashiro; Sonomoto, 2013). O consórcio formado por *L. futsaii* e *L. plantarum* (Lact614) preenche esse critério já que atinge essa produção dentro de 48 h.

5. CONCLUSÃO

A fermentação semissólida de resíduos de camarão conduzida pelo consórcio *Lactobacillus futsaii* e *L. plantarum* (Lact614) representa uma alternativa viável, rápida e eficiente para agregar valor aos resíduos de camarão, tendo como produtos finais, quitina e um líquido rico em proteínas, pigmentos e minerais, que possuem grande potencial comercial.



XXI Congresso Brasileiro
de Engenharia Química

Fortaleza/CE
25 a 29 de setembro



XVI Encontro Brasileiro sobre o
Ensino de Engenharia Química
Fortaleza/CE
25 a 29 de setembro

6. REFERÊNCIAS

ABCC. *O censo da carcinicultura nacional em 2013*. Recife: [s.n.].

ABDEL-RAHMAN, M. A.; TASHIRO, Y.; SONOMOTO, K. Recent advances in lactic acid production by microbial fermentation processes. *Biotechnology advances*, v. 31, p. 877-902, 2013.

BHASKAR, N. *et al.* Shrimp biowaste fermentation with *Pediococcus acidolactici* CFR2182: Optimization of fermentation conditions by response surface methodology and effect of optimized conditions on deproteination/demineralization and carotenoid recovery. *Enzyme and Microbial Technology*, v. 40, p. 1427–1434, 2007.

CARVALHO, T. Bioprocessamento de resíduos de camarão para obtenção de quitina, quitosana e mistura de proteínas, pigmentos e minerais. Universidade Federal do Ceará, 2010.

CIRA, L. A. *et al.* Pilot scale lactic acid fermentation of shrimp wastes for chitin recovery. *Process Biochemistry*, v. 37, n. 12, p. 1359–1366, 2002.

DUAN, S. *et al.* Improved production of chitin from shrimp waste by fermentation with epiphytic lactic acid bacteria. *Carbohydrate Polymers*, v. 89, p. 1283–1288, 2012.

GHORBEL-BELLAJ, O. *et al.* Optimization of chitin extraction from shrimp waste with *Bacillus pumilus* A1 using response surface methodology. *International journal of biological macromolecules*, v. 61, p. 243–50, 2013.

LITCHFIELD, J. H. Lactic acid microbially produced. In: *Encyclopedia of microbiology*. Oxford: Academic Press, p. 362–372, 2009.

MAN, J. C.; ROGOSA, M.; SHARPE, M. E. A medium for the cultivation of lactobacilli. *Journal of biotechnology*, v. 23, p. 130, 1960.

OH, K. T. *et al.* Demineralization of crab shell waste by *Pseudomonas aeruginosa* F722. *Process Biochemistry*, v. 42, p. 1069–1074, 2007.

PRAMEELA, K. *et al.* Bioremediation of shrimp biowaste by using natural probiotic for chitin and carotenoid production an alternative method to hazardous chemical method. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*, v. 1, p. 903–910, 2010.

SÁNCHEZ-CAMARGO, A. P. *et al.* Supercritical CO₂ extraction of lipids and astaxanthin from Brazilian redspotted shrimp waste (*Farfantepenaeus paulensis*). *The Journal of Supercritical Fluids*, v. 56, p. 164-73, 2011.

SONGSIRIRITTHIGUL, C. *et al.* Expression and characterization of *Bacillus licheniformis* chitinase (ChiA), suitable for bioconversion of chitin waste. *Bioresource Technology*, v. 101, p. 4096–4103, 2010.

PROMOÇÃO

REALIZAÇÃO

ORGANIZAÇÃO

