

INSTITUTO FEDERAL DE SANTA CATARINA
CÂMPUS SÃO MIGUEL DO OESTE
TECNOLOGIA EM ALIMENTOS

ANDRENIZE BECKER
EVANDRO ZENARO
LETÍCIA LUIZA CADONÁ

OTIMIZAÇÃO DA SACARIFICAÇÃO DO AMIDO DE CRUEIRA DE MANDIOCA
POR MEIO DO CULTIVO EM ESTADO SÓLIDO DE *Pleurotus albidus* 88F-13

São Miguel do Oeste – SC
2018

ANDRENIZE BECKER
EVANDRO ZENARO
LETÍCIA LUIZA CADONÁ

OTIMIZAÇÃO DA SACARIFICAÇÃO DO AMIDO DE CRUEIRA DE MANDIOCA
POR MEIO DO CULTIVO EM ESTADO SÓLIDO DE *Pleurotus albidus* 88F-13

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Tecnologia
em Alimentos do Câmpus São Miguel
do Oeste do Instituto Federal de
Santa Catarina para a obtenção do
diploma de Tecnólogo em Alimentos.

Orientadora: Patrícia Fernanda
Schons
Coorientador: Fernando Sanches de
Lima

São Miguel do Oeste – SC

2018

OTIMIZAÇÃO DA SACARIFICAÇÃO DO AMIDO DE CRUEIRA DE MANDIOCA
POR MEIO DO CULTIVO EM ESTADO SÓLIDO DE *Pleurotus albidus* 88F-13

ANDRENIZE BECKER
EVANDRO ZENARO
LETÍCIA LUIZA CADONÁ

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos e aprovado na sua forma final pela comissão avaliadora abaixo indicada.

São Miguel do Oeste, 12 de dezembro de 2018

Orientadora Patrícia Fernanda Schons
Doutora em Ciências de Alimentos – UNICAMP
Instituto Federal de Santa Catarina

Stephanie Silva Pinto
Doutora em Ciências de Alimentos – UFSC
Instituto Federal de Santa Catarina

Roberta Garcia Barbosa
Doutora em Ciências de Alimentos – UFSC
Instituto Federal de Santa Catarina

As assinaturas da banca estão devidamente registradas na ata de defesa,
arquivada junto à Coordenação do Curso.

Otimização da sacarificação do amido de crueira de mandioca por meio do cultivo em estado sólido de *Pleurotus albidus* 88F-13

Optimization of saccharification of crueira cassava by means of the cultivation in the solid state of *Pleurotus albidus* 88F-13

A. Becker¹; E. Zenaro¹; L. L. Cadoná^{1*}
P. F. Schons²; F. S. de Lima³

¹ *Graduando de Tecnologia em Alimentos Instituto Federal de Santa Catarina, Bairro São Luís, São Miguel do Oeste, SC, Brasil CEP 89.900-000. Tel. +55 (49) 3631-0407*

² *Docente da área de Produção Alimentícia do Instituto Federal de Santa Catarina – São Miguel do Oeste, Santa Catarina*

leticiacadona@gmail.com

Dentre as matérias primas ricas em amido, as que vem sendo mais estudadas, são aquelas com maior potencial de sacarificação, dentre elas a crueira, que é um resíduo sólido gerado em quantidade considerável, a partir do processamento da mandioca. O processo de bioconversão de resíduos agroindustriais, como a crueira e a utilização destes produtos em diversas indústrias permite redução dos impactos ambientais. Este estudo teve como objetivo a otimização do processo de sacarificação do amido de crueira de mandioca por meio do cultivo em estado sólido de *Pleurotus albidus* 88F-13. A biotransformação da crueira por *P. albidus* foi realizada por fermentação em estado sólido durante 14 dias, avaliada por meio de planejamento composto central rotacional ². Avaliou-se o efeito das variáveis umidade [x_1] (entre 56 a 84%) e temperatura [x_2] (entre 18 a 32°C), na produção de açúcares redutores. Os resultados obtidos no planejamento indicam que a umidade exerceu efeito estatístico significativo sobre a sacarificação da crueira, diferentemente da temperatura que não mostrou significância estatística. A melhor faixa de sacarificação obtida, por meio do modelo matemático, foi de 74% de umidade a 26°C resultando na concentração de 5,79 g de açúcares redutores/100 g de crueira em base seca. A biotransformação da crueira por *P. albidus* mostrou-se uma alternativa viável na produção de açúcares fermentescíveis para geração de produtos de interesse industrial e, conseqüentemente, a diminuição do impacto ambiental gerado pelo descarte de resíduos agroindustriais.

Palavras-chave: Crueira 1; Bioconversão 2; Sacarificação 3.

Among the raw materials rich in starch, that has been most researched those are with the greatest potential for saccharification, and among them, the crueira, which is a solid residue generated in considerable amount, from the processing of cassava. The process of bioconversion of agro-industrial waste, such as the crueira and the use of these products in various industries allows for the reduction of environmental impact. This study has as objective the optimization of the process of saccharification of the starch crueira cassava by means of the cultivation in the solid state of *Pleurotus albidus* 88F-13. The biotransformation of crueira by *P. albidus* was carried out by solid state fermentation for 14 days, assessed by means of the planning composite central rotational ². We evaluated the effect of variable humidity [x_1] (between 56 of 84%) and temperature [x_2] (between 18 of 32°C), in the production of reducing sugars. The results obtained in the planning indicate that moisture exerts a significant statistically effect significant on the saccharification of crueira, unlike the temperature that showed no statistical significance. The best range of saccharification obtained was 74% humidity, the temperature of 26 degrees resulting in the concentration of 5,79 g of reducing sugars/100 g crueira on a dry basis. The biotransformation of crueira by *P. albidus* was shown to be a viable alternative in the production of fermentable sugars for the generation of products of industrial interest and, consequently, the reduction of the environmental impact generated by the disposal of agro-industrial waste.

Keywords: Crueira 1; Bioconversion 2; Saccharification 3.

1. INTRODUÇÃO

Planta de origem brasileira, a mandioca foi encontrada entre as espécies de raízes selvagens do gênero *Manihot esculenta crantz*. Encontrada no Brasil, em países sul americanos, além de

outros continentes, foi levada por portugueses e espanhóis no período colonial [1], e difundida em mais de 90 países da América Latina, Caribe, África e Ásia, na América tropical é cultivada há mais de 5000 anos. Constitui um alimento energético para mais de 400 milhões de pessoas no mundo, e principalmente em países em desenvolvimento, onde é cultivada por meio de agricultura familiar [2].

As raízes apresentam composição média de 68,2% de umidade, 30% de amido, 2% de cinzas, 1,3% de proteínas, 0,2% lipídeos e 0,3% de fibras [3].

O Brasil até 1991 era o maior produtor mundial, entretanto, com o avanço de outras linhas de produção agrícola como grãos, houve redução na produção sendo o país ultrapassado pela Nigéria. Todavia, nas últimas décadas a produção retomou o crescimento apresentando em 2016 a produção de 23 milhões de toneladas, sustentando a quarta posição dentre os maiores produtores [1].

Um dos subprodutos gerado no processamento da mandioca em quantidades consideráveis é a cruveira. Resíduo sólido resultante do processo de peneiramento, que na maioria dos casos é descartada ou utilizada como parte da alimentação animal. Este resíduo também se mal acondicionado pode gerar odores desagradáveis e atrair insetos e roedores [4]. Cada tonelada de mandioca processada produz 15,4 kg de cruveira, a reutilização desse resíduo é importante para a redução de resíduos lançados ao meio ambiente, especialmente, para minimizar os impactos ambientais [5]. Considerando a produção brasileira de mandioca de 23 milhões de toneladas, pode-se estimar que anualmente o Brasil produz 354 mil toneladas deste resíduo.

Um dos maiores desafios da sociedade contemporânea tem sido o gerenciamento adequado dos resíduos agroindustriais [6], gerados durante os processos produtivos [7]. A disposição inadequada destes resíduos pode acarretar danos irreversíveis ao meio ambiente, além de problemas de ordem social e econômica [7,8]. Diante destes agravos, estudos têm direcionado os esforços para a utilização dos resíduos agroindustriais em alternativas proveitosas [9,10].

Pandey e Soccol [9] observam grande interesse na utilização dos resíduos agroindustriais como aqueles gerados na cadeia produtiva da mandioca (*Manihot esculenta Crantz*) uma das principais culturas do país que possibilita a obtenção de uma variada gama de produtos, dentre eles a farinha. Para obtê-la diversos resíduos são gerados e em quantidades significativas, sendo necessário um reaproveitamento [10]. Em meio aos resíduos, destaca-se a cruveira, resíduo sólido rico em amido, composto por pedaços de cascas, entrecasas e raízes da mandioca que ficam retidas na malha das peneiras [11]. O material apresenta grande parte constituinte lignocelulolítica com cerca de 80% de amido e 7% de fibras em base seca [5,10].

Quando comparada a outros resíduos agrícolas pode ser vista como boa alternativa para a produção de produtos de interesse como o bioetanol em virtude do alto conteúdo de amido. Contudo, para a biotransformação do conteúdo amiláceo presente no material é necessário que as moléculas sejam hidrolisadas por meio químico ou por hidrólise enzimática. Neste último, se faz necessário o uso de enzimas amilolíticas podendo ser obtidas de fontes vegetais ou microbiana [12,13]. Sob a ótica da utilização de microrganismos, a cruveira serve como um reservatório de energia para colonização de fungos e assimilação de compostos [9,14,15,16].

Estudos elaborados por Douillard e Mathan [18] apontam dentre as espécies de fungos a do gênero *Pleurotus*, com alta produtividade em substratos diversos, em especial a espécie *Pleurotus albidus*. Esta espécie é típica da América do Sul, facilmente encontrada em regiões que apresentam uma densidade arbórea com boa concentração de umidade, propícias ao seu desenvolvimento [19,20]. A espécie tem se destacado por elevados rendimentos e, boa adaptabilidade nos cultivos em estados sólidos (ES), devido o bom desenvolvimento do micélio. A produção de enzimas amilolíticas e lignocelulolíticas tem seu auge na fase de crescimento micelial, contudo no processo de sacarificação do amido o desenvolvimento do fungo poderá ser viabilizado sem que haja a frutificação [13,20].

Em bioprocessos o cultivo em estado sólido (ES) é uma alternativa à produção convencional da hidrólise enzimática. Este método é caracterizado pela ausência de água livre no produto e pelas condições do material bem como as variáveis ambientais como umidade e temperatura para seu desenvolvimento [21]. Estas variáveis estão diretamente relacionadas a eficiência de assimilação do conteúdo amiláceo presente na matéria-prima. Assim, o emprego de *P. albidus* no cultivo ES para bioconversão de cruveira em açúcares fermentescíveis [12], pode ser comparado

aos trabalhos em resíduos de cereais utilizados na indústria cervejeira, como farelo de arroz, farinha de palmito, farelo de milho e películas de mandioca, com cultivo em ES de fungos com finalidade de aumentar o teor em proteínas e reduzir o teor de hidratos de carbono complexos [22].

Uma vez que o cultivo em estado sólido é influenciado pela umidade da crueira e pela temperatura de cultivo, o objetivo desse trabalho foi otimizar, por meio da metodologia de superfície de resposta, a sacarificação do amido de crueira de mandioca por meio do cultivo em estado sólido de *Pleurotus albidus* 88F-13.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Matéria prima e microrganismo utilizados no cultivo em estado sólido

Os experimentos foram realizados nos laboratórios de análise instrumental, microbiologia e bromatologia do Instituto Federal de Santa Catarina, Campus de São Miguel do Oeste - SC.

A amostra de crueira bruta foi cordialmente cedida por duas farinheiras vinculadas a Associação das Indústrias Processadoras de Mandioca e Derivados de Santa Catarina (AIMSC) a crueira foi recebida com umidade de 79,8%. Esta foi previamente seca em estufa de circulação de ar forçado a 70° C, por 12 horas até atingir umidade de 24,1 %, triturada em moinho de facas para padronizar a granulometria, e armazenada sob refrigeração entre 4 a 7° C, durante todo o estudo experimental.

A cepa utilizada *Pleurotus albidus* 88F-13, fora disponibilizada da Micoteca do Laboratório de Enzimas e Biomassa da Universidade de Caxias do Sul/UCS-RS, já em fase micelial viável para cultivo. A cepa foi mantida sob refrigeração entre 4 a 7° C até ser inoculada.

2.2 Método experimental para otimização da sacarificação do amido de crueira de mandioca

As variáveis umidade da crueira e temperatura do cultivo, foram investigadas, por meio da metodologia de superfície de resposta, para otimizar a hidrólise do amido da crueira de mandioca em açúcares redutores. As faixas de umidade e temperatura foram estabelecidas de acordo com os estudos de Sánchez e Royse, [23]; Yang, [24]; Chang e Miles, [25].

A umidade da crueira foi ajustada utilizando o seguinte balanço de massa de sólidos totais (Eq. 1):

$$m_{inicial} \cdot ST_{inicial} = m_{desejada} \cdot ST_{desejado} \quad \text{Eq. 1}$$

Onde: $m_{inicial}$ = massa de crueira seca em estufa que deve ser pesada; $ST_{inicial}$ = sólidos totais da crueira seca em estufa (24,1%); $m_{desejada}$ = massa desejada de crueira com umidade ajustada; $ST_{desejado}$ = sólidos totais desejado na crueira; sendo que a umidade ajustada equivale a 100% - $ST_{desejado}$.

Os experimentos foram realizados de acordo com os valores dos níveis das variáveis e matriz do planejamento conduzido conforme Delineamento Central Composto Rotacional 2² (DCCR) tendo duas variáveis independentes com a adição dos pontos axiais e 3 repetições no ponto central, totalizando 11 experimentos (Tabela 1 e 2). Teve a finalidade de verificar o ajuste do modelo quadrático gerado aos dados experimentais e obter uma condição ótima de umidade da crueira e temperatura de cultivo para promover a máxima sacarificação.

Para cada ensaio (Tabela 2), 25 g de crueira com umidade ajustada de acordo com a necessidade do ensaio, foi transferida para frascos de vidro (7,2 cm de diâmetro e 13,5 cm de altura), e esterilizados em autoclave vertical (Prismatec, CS, Brasil) a 120° C por 15 min. Após permaneceu em resfriamento em capela de fluxo laminar sob luz ultra violeta durante 20 min. Em seguida em cada frasco foi inoculado dois discos de 1cm de diâmetro da cepa sobre a crueira e, tampados individualmente vedados com gaze e algodão permitindo a troca gasosa.

Os frascos foram acondicionados em um recipiente contendo 50 mL água e envoltos por um filme plástico a fim de manter a umidade relativa e, evitar o equilíbrio de umidade dos ensaios com ambiente da estufa de incubação. Os experimentos foram incubados por 14 dias, período determinado segundo estudos descritos por Moraes; Astol Filho e Ulhoa [26] em estufa BOD (CIENLAB, CE-300/350-AU, Brasil) em temperatura pré-estabelecida variando entre 18 a 32° C ($\pm 1^\circ$ C) e umidade variando de 56 a 84 % (± 1 %). Ao final desse período, as amostras de cada frasco foram congeladas, liofilizadas (Liobras, L101, Brasil), trituradas em moinho analítico (Ika 11 basic, St. Louis, MO, EUA) e mantidas a -18° C até a determinação da concentração de açúcares redutores.

Tabella 1. Delineamento composto central rotacional (2^2) para o estudo da influência da umidade e temperatura na produção de enzimas de interesse industrial por *Pleurotus albidus* 88F-13 em crueira

Variáveis	Níveis				
	- 1,41	- 1	0	+1	+1,41
Umidade (X_1)	53,2	60	70	80	86,8
Temperatura (X_2)	16,6	20	25	30	33,4

Partindo das coordenadas do ponto máximo definidas no planejamento da sacarificação, procederam-se os ensaios para o estudo da determinação da concentração de açúcares redutores.

2.3 Determinação da concentração de açúcares redutores

A extração e obtenção do permeado para determinação de açúcares redutores foi adaptada da metodologia descrita por Moraes; Astol Filho; Ulhoa, [26]. A extração foi realizada em duplicata para a amostra controle e da mesma forma para as amostras liofilizadas de cada ensaio experimental (**Tabella 2**). Cada ensaio teve 1 g de amostra transferida para frascos *Erlenmeyer* e adicionados 10 mL de tampão fosfato de sódio 0,1 mol/L pH 7. Essa mistura foi mantida em mesa agitadora orbital (Solab, SL-180/A, Brasil) por 30 min, a 100 rpm e 25° C. Em seguida, essa mistura foi devidamente homogeneizada, transferida para tubos centrífuga e, centrifugada (Herexi, HR/T16M, China) por 10 min a $18200 \times g$ e 4° C. O sobrenadante resultante da centrifugação foi filtrado em membrana de PTFE de 0,22 μ m (Hexis, HX0097, Brasil) e o permeado utilizado como extrato para a determinação da concentração de açúcares redutores.

A determinação da concentração de açúcares redutores foi realizada em triplicata conforme a metodologia ADNS proposta por Miller [27], com algumas modificações, sendo dividida em três etapas: preparo das soluções; reação das soluções e leitura da absorbância.

Em tubos de ensaio com rosca foram adicionados 1 mL de solução de amido 1%, 0,3 mL de tampão acetado 0,1 mol/L pH 5, com 0,3 mL de extrato e 0,5 mL de solução de ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS). Esta mistura foi homogeneizada e submetidas à ebulição por 5 min em banho maria para ocorrer a reação. Em seguida, foi resfriada em banho de gelo e adicionados 2 mL de água destilada antes da medida da absorbância em espectrofotômetro digital (Quimis, 90/240, Brasil) a 540 nm.

A concentração de açúcares redutores foi expressa em g de glicose por 100 g de amostra em base seca, com base nos pontos da curva analítica de glicose de 0,4 a 1,4 mg/mL, empregando-se os valores obtidos por meio do coeficiente de determinação gerado pelo modelo quadrático empregado.

2.4 Análise estatística

Os efeitos das variáveis independentes, umidade da crueira (x_1) e da temperatura de cultivo (x_2) sobre a função resposta concentração de açúcares redutores (Y) foram avaliados inicialmente por meio do planejamento do tipo fatorial linear completo 2^2 , ajustando-se seguidamente o

planejamento DCCR 2². O modelo quadrático genérico (**Eq. 2**) foi utilizado para determinar a condição ótima de cultivo de *Pleurotus albidus* 88F-13 que proporcione a máxima sacarificação do amido de crueira.

$$Y = \beta_0 + \beta_1x_1 + \beta_2x_2 + \beta_{11}x_1^2 + \beta_{22}x_2^2 + \beta_{12}x_1x_2 + e \quad \text{Eq. 2}$$

Onde: Y =função resposta, x_1 e x_2 =níveis codificados das variáveis independentes, β =coeficientes de regressão, e =erro experimental.

O modelo foi obtido por meio de regressão e o coeficiente de determinação (R^2), que fornece uma medida da proporção da variação e submetido à análise de variância (ANOVA) utilizando o programa Statistica 10.0 (StatSoft, Tulsa, OK, EUA) analisando estatisticamente a 95% de limite de confiança ($p < 0,05$). O gráfico de superfície de resposta (**Figura 1**) foi gerado a partir do modelo ajustado aos dados experimentais.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os efeitos da umidade da crueira (x_1) e da temperatura de cultivo (x_2) sobre a concentração de açúcares redutores inicialmente investigados por meio do planejamento fatorial linear completo 2² indicou a necessidade de adição de pontos axiais para verificar curvatura na superfície de resposta (**Tabela 2**), sendo possível estimar um modelo quadrático (**Eq. 3**). O modelo quadrático foi validado pela análise de variância ANOVA (**Tabela 2**) sendo possível gerar a superfície de resposta (**Figura 1**).

Os dados obtidos para a bioconversão do amido em açúcar redutor por meio do DCCR 2² aplicado ao cultivo de *Pleurotus albidus* 88F-13 em crueira de mandioca por 14 dias para a variável resposta estão expressas (**Tabela 2**) em $Y_{\text{experimental}}$. Com os valores obtidos em $Y_{\text{experimental}}$ foi possível obter o coeficiente de regressão e de determinação (R^2) (**Tabela 3**) aplicando-se ao modelo gerado por meio da equação quadrática (**Eq. 3**) para análise de Y_{estimado} indicando a concentração de açúcares redutores em g por 100 g de crueira base seca.

Tabela 2 – Delineamento Composto Central Rotacional 2² aplicado ao cultivo de *Pleurotus albidus* 88F-13 em crueira de mandioca por 14 dias

Ensaio	Variáveis independentes*		Variável resposta	
			Açúcares redutores (g/100 g)	
	x_1 (X_1)	x_2 (X_2)	$Y_{\text{experimental}}$	Y_{estimado} (Eq. 1)
01	-1 (60%)	-1 (20 °C)	2,22	2,00
02	-1 (60%)	+1 (30 °C)	1,79	1,32
03	+1 (80%)	-1 (20 °C)	4,59	3,21
04	+1 (80%)	+1 (30 °C)	6,28	4,64
05	-1,41 (56%)	0 (25 °C)	0,75	0,86
06	+1,41 (84%)	0 (25 °C)	2,32	4,06
07	0 (70%)	-1,41 (18 °C)	2,11	2,86
08	0 (70%)	+1,41 (32 °C)	2,28	3,39
09	0 (70%)	0 (25 °C)	5,96	5,55
10	0 (70%)	0 (25 °C)	5,55	5,55
11	0 (70%)	0 (25 °C)	5,14	5,55

O cálculo dos efeitos lineares (L) e quadráticos (Q) apontados indica o quanto deve ser grande o efeito para ter significado estatisticamente. As variáveis que apresentam valores positivos indicam que o aumento de seus níveis proporciona uma resposta maior, e os valores negativos de forma inversa.

Tabela 3. Resultados dos coeficientes de regressão do estudo da sacarificação de crueira por *Pleurotus albidus* 88F-13

Parâmetros	Coefficiente de regressão	Erro puro	T (5)	P valor
Média	5,55	0,82	6,78	0,001
Umidade % (L)	1,13	0,50	2,27	0,073
Umidade % (Q)	-1,54	0,60	-2,59	0,049
Temperatura °C (L)	0,19	0,50	0,38	0,722
Temperatura °C (Q)	-1,21	0,60	-2,03	0,098
Interação umidade X temperatura	0,53	0,71	0,74	0,490

$R^2 = 74\%$; L = linear; Q = quadrático

$$Y_{estimado} = 5,55 + 1,13x_1 - 1,54x_1^2 + 0,19x_2 - 1,21x_2^2 + 0,53x_1x_2 (R^2 = 0,74) \text{ Eq.3}$$

Esse modelo apresentou um coeficiente de determinação (R^2) de 0,74, indicando que 74% da variabilidade da concentração de açúcares redutores é explicada pela variação da umidade da crueira e temperatura empregada no cultivo do *Pleurotus albidus* 88F-13.

De acordo com a análise de regressão e de variância a umidade da crueira apresentou um efeito quadrático negativo e significativo ($p < 0,05$), enquanto que os demais termos do modelo não foram significantes (**Tabela 3**). É possível afirmar que o parâmetro de umidade (Q) foi a variável que mais influenciou na variável resposta ocasionando o aumento da concentração da concentração de açúcares redutores.

Assim, a partir das derivadas parciais foram determinados os pontos críticos desse modelo, indicando que a combinação de $x_1 = 0,395$ (umidade da crueira de 74%) e $x_2 = 0,164$ (temperatura de cultivo de 26 °C) é a condição ótima de cultivo, e de acordo com o modelo será possível alcançar a concentração de 5,79 g de açúcares redutores/100 g de crueira em base seca (**Eq. 3**). Contudo, uma vez que os efeitos da temperatura não foram significantes, qualquer temperatura utilizada entre 18 a 32 °C não alterará significativamente a função resposta. Esta condição otimizada aponta a significância estatística da variável umidade foi validada por meio da análise de variância ANOVA evidenciando estatisticamente a 95% de limite de confiança ($p < 0,05$).

Esse resultado potencializa a utilização de *Pleurotus albidus* no processo de sacarificação do amido de crueira, pois o cultivo poderia ser realizado à temperatura ambiente em sistema isolado para manutenção da temperatura, sem gastos energéticos com aquecimento ou resfriamento (**Figura 1**).

Tabela 4 – ANOVA do modelo gerado a partir do planejamento composto central.

Fator	Grau de liberdade	SS	MS	F	P
x_1 umidade (L)	1	10,30	10,30	5,13	0,073
x_1^2 umidade (Q)	1	13,46	13,46	6,70	0,049*
x_2 T (L)	1	0,28	0,28	0,14	0,722
x_2^2 T (Q)	1	8,30	8,30	4,13	0,098
x_1x_2 U x T	1	1,11	1,11	0,55	0,490
Erro	5	10,04	10,04	-	-

*Fator significativo ($p < 0.05$).

SS = soma dos quadrados; MS= quadrado médio

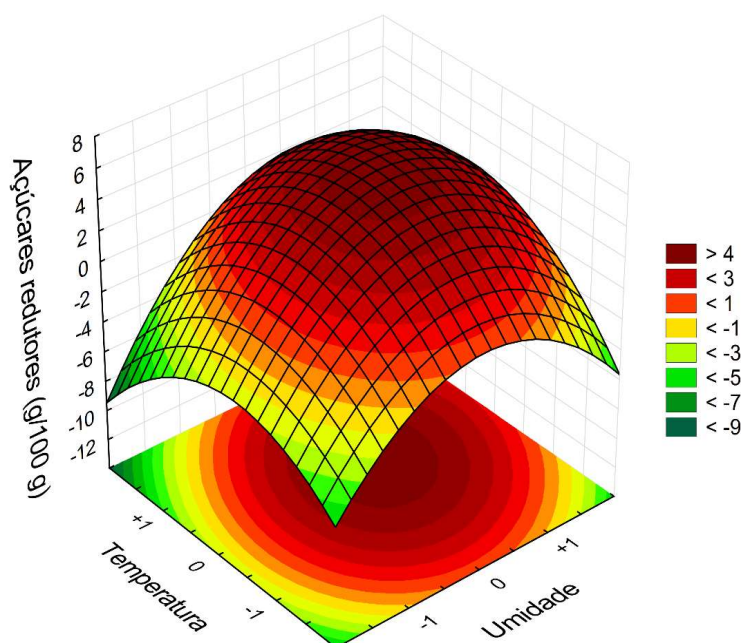


Figura 3 – Superfície de resposta gerada em função da umidade da crueira (x_1) e temperatura de cultivo (x_2) por 14 dias com *Pleurotus albidus*.

$x_1 = -1$ (60%), 0 (70%) e +1 (80%); $x_2 = -1$ (20 °C), 0 (25 °C) e +1 (30 °C)

Por meio da superfície de resposta verifica-se que a umidade é o fator limitante para a sacarificação do amido de crueira com o cultivo de *P. albidus* 88F-13. A amostra controle (umidade de 24,1%) apresentou concentração de 0,008 g/100 g de crueira para açúcares redutores, diante disso foi observado o aumento em 72 vezes do conteúdo inicial na condição ótima desejada para $x_1 = 74\%$. Este resultado está de acordo com os estudos elaborados por Surmely et al., [28] que em conversão do amido em açúcares redutores na hidrólise enzimática da casca de mandioca, obteve uma variação de rendimentos em relação ao conteúdo inicial de 81,3 a 109,1%. Destaca que no estudo teórico de hidrólise total de amido em moléculas de glicose, 1g de amido daria 1,1g de glicose, com rendimento de 110%, pelo conteúdo amiláceo do substrato esperando-se bons resultados do processo hidrolítico.

As condições otimizadas encontradas para este estudo no cultivo de *P. albidus* 88F-13 são similares com estudo de Chang; Miles [25], Cho [15], Royse [29], que indicam condições ideais de metabolismo em substrato com umidade mais elevada próximas a 80 % e a possibilidade de emprego de ampla faixa de temperatura utilizando como ponto central a temperatura ambiente 25° C, como àquela obtida por meio da superfície de resposta variando na faixa entre 18 a 32 °C para maior eficiência de bioconversão de amido.

Kunhi et al. [30]; Leonel e Cereda [31] corroboram com os resultados obtidos para umidade no presente estudo, apontando a utilização de enzimas celulases e pectinases obtidas de linhagens de *P. ostreatus* e *P. pulmonarius* em farelo de mandioca com emprego de umidade média em 78,61%, para a sacarificação dos resíduos amiláceos sob temperatura ambiente. Saito e Cabello [32] apontam ainda o estudo com diferentes concentrações de enzimas α -amilase e utilização de variáveis de umidade e temperatura na hidrólise de polpa de mandioca para a produção de etanol, gerando açúcar redutor por meio da sacarificação, sendo a primeira a mais importante variável a ser considerada variando entre 70 a 85 % sua condição ideal

Quanto a concentração de açúcares redutores obtidas na sacarificação da crueira de mandioca por *P. albidus* de 5,79 g/100 g de crueira, pode-se comparar ao estudo desenvolvido por Woiciechowsk et al. [33], em que estudou a hidrólise enzimática do bagaço de mandioca com rendimento de 62,35 g de açúcar redutor a partir de 100 g de bagaço. Pode-se avaliar o bom rendimento obtido neste estudo com o percentual amiláceo encontrado inicialmente na mandioca próximo a 80 %.

Demais estudos como Wood [34] comparam resultados obtidos com a fermentação em farelo e casca de arroz na proporção 6/4 e umidade 74% com atividade máxima observada para o emprego de enzimas amilolíticas como α -amilase obtendo-se 2,36 U/g, após 312 horas de cultivo e 9,93 U/g para a atividade máxima de amiloglicosidase ao final da fermentação. Diante disso, é possível verificar similaridade do período fermentativo de 14 dias aplicado a sacarificação da crueira, porém observa-se diferença nos resultados obtidos da concentração de açúcares redutores, apontando para o estudo com cascas de arroz a baixa concentração enzimática com hidrolisado entre 0,2 g a 0,81 g/100 g de substrato. A crueira desta forma, comparada a casca de arroz apresenta maior potencialidade de bioconversão com a sacarificação do conteúdo amiláceo presente.

É possível analisar o emprego de outros substratos como o bagaço de cana-de-açúcar para o processo de bioconversão como o estudo de Hartmann [35] que avaliou o desenvolvimento micelial de espécies de basidiomicetos, que inclui *P. albidus* e, posteriormente, hidrólise enzimática no cultivo em ES por 49 dias. Para este, observou-se baixo crescimento micelial e bioconversão do substrato para *P. albidus* 88F-13 em relação às demais cepas empregadas. Sales-Campos et al., [22] relata com isso que as diferenças têm relação direta com diversos fatores como o pH do meio, a presença de macronutrientes e micronutrientes necessários para a espécie, o tipo de substrato e umidade do meio.

Complementa o estudo de Binod [36] que avaliou a hidrólise enzimática de bagaço de cana-de-açúcar aplicando-se um pré-tratamento de auto-hidrólise com a utilização de água, sem a adição de outros aditivos. Ao utilizar a cepa de *P. albidus* 88F-13 verificou-se para os resultados da sacarificação não haver resultados estatisticamente significativos em relação às amostras controles. Isso sugere que a eficiência de bioconversão com *P. albidus* 88F-13 esteja associada a algumas características específicas como tipo de substrato, sua composição e condições do meio, além do tipo de cultivo empregado.

Para a presente pesquisa, observa-se que o cultivo em estado sólido (ES) possibilitou melhor interação de *P. albidus* com o substrato fibroso de alto conteúdo amiláceo aumentando a hidrólise-sacarificação na combinação ótima das variáveis descritas (**Figura 1**). Estas observações vão ao encontro da bibliografia mencionada por Pirotta et al., [37] e Sanchez [38], que apontara a utilização do cultivo ES para fungos basidiomicetos isolados da região amazônica com aumento do potencial de degradação de biomassa vegetal e bioconversão de polissacarídeos sob condições otimizadas.

Em relação a possíveis aplicações de substratos enriquecidos com macrofungos, Machado [39] aponta o estudo na elaboração de bolo à base de crueira e cogumelo comestível (*Lentinus citrinus*),

encontrando um produto de baixo custo, rico em macro e micronutrientes, considerando uma ótima alternativa no desenvolvimento de produtos sem glúten e com qualidade nutricional significativa.

4. CONCLUSÃO

A crueira mostrou ser um substrato viável ao cultivo de *P. albidus* por seu alto conteúdo amiláceo passível de bioconversão em açúcares fermentescíveis.

Observou-se efeito estatístico significativo para a variável umidade entre os pontos gerados pelo modelo quadrático empregado. A faixa ótima foi obtida de acordo com o modelo que apontou 74% de umidade. Já para a variável temperatura não houve efeito estatisticamente significativo, o que indica a possibilidade de aplicação em ampla faixa, entre 18° C a 32° C. Assim, conclui-se que a umidade é um fator limitante a eficiência do processo de cultivo de fungo para a biotransformação do resíduo amiláceo presente na matéria.

No que diz respeito aos resultados para o cultivo de *P. albidus* e a otimização da sacarificação do amido de crueira de mandioca por meio do cultivo em estado sólido estes foram satisfatórios apontando a concentração de 5,79 g de açúcares redutores/100 g de crueira em base seca. Se comparada a casca de arroz, seu potencial para fornecer açúcares fermentescíveis é maior por 100 g de substrato.

Assim, a crueira tem potencial por meio da sacarificação de fornecer açúcares fermentescíveis podendo ser utilizados como matéria-prima para a produção de biocombustíveis renováveis, reduzindo a quantidade de resíduo e por consequência os impactos ambientais, sociais e econômicos em virtude do descarte incorreto.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CONAB. **Mandioca, raiz, farinha e fécula**. Org. Rodrigo Gomes de Souza. Companhia Nacional de Abastecimento. Brasília – DF, 2017. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/17_02_16_17_38_32_17.pdf>. Acessado em: 06 abr. 2018.
2. FAO/LATIN FOODS – Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación/Oficina Regional para América Latina Y el Caribe. **Tabla de composición de Alimentos de América Latina**. 2004. Disponível em: <<http://www.rlc.fao.org/bases/alimento>>. Acesso em: 20 mar. 2018.
3. FENIMAN, C. M. Caracterização de raízes de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) do cultivar IAC 576-70 quanto à cocção, composição química e propriedades do amido em duas épocas de colheita. 2004. 83 f. **Dissertação** (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba: São Paulo, 2004.
4. SEBRAE, Serviço de apoio às Micros e Pequenas Empresas. **Boas práticas de fabricação, diagnóstico ambiental, saúde e segurança no trabalho, ergonomia e projeto arquitetônico**. Manual de referência para casas de farinha. Alagoas, 2006. 24p.
5. Araújo, N. C. et al. Quantificação da geração de resíduos em casas de farinha no estado da Paraíba. **Revista Monografias Ambientais**, v. 13, n. 5, p. 3793-3799, 2014.
6. Veras, L. R. V.; Povinelli, J. A vermicompostagem do lodo de lagoas de tratamento de efluentes industriais consorciada com composto de lixo urbano. **Revista Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 9, n. 3, set., p. 7, 2004.
7. Morales, E. M. Viabilidade de obtenção de alimento funcional a base de farinha de mesocarpo de babaçu (*Orbignya sp.*) e folhas de mandioca (*Manihot esculenta*) mediante fermentação por *Rhizopus microsporus* var. *oligosporus*. 2013. 69f. **Dissertação** (Dissertação de Mestrado) Universidade Estadual Paulista, Rio Claro.

8. Pandey, A., et al. Biotechnological potential of agro-industrial residues II: Cassava bagasse, n. 74, **Bioresource Technology**, 2000. p. 81-87.
9. Pandey, A.; Soccol, C. R. Bioconversion of biomass: a case study of ligno-cellulosics bioconversions in solid state fermentation. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 41, n. 4, p. 379-390, 1998.
10. Neves, V. J. M. Uso do resíduo da produção de farinha de mandioca (Crueira) na produção de álcool fino. 2004. 54 f. **Dissertação** (Mestrado em Agronomia). Faculdade de Ciências Agrônomicas da Unesp, Botucatu: São Paulo, 2004.
11. Soccol, C. R. et al. Biotransformation of solid waste from cassava starch production by *Rhizopus* in solid state fermentation. Optimization of the culture conditions and growth kinetics. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 38. n. 4, p. 1311-1318, 1995.
12. Collares, R. M. Otimização do processo de hidrólise da mandioca “*In Natura*” com o uso de enzima amilolíticas e pectinolíticas.. 2011. **Dissertação**. Santa Maria (RS): Universidade Federal de Santa Maria; 2011.21-27 p.
13. Filho, W. G. V. **Fermentação alcoólica de raízes tropicais**. Tecnologia, usos e potencialidades de tuberosas amiláceas Latino americanas. São Paulo: Fundação Cargill; 2003; 3(9); 530-575.
14. Al-Barakah, F. N. Utilizando a biotecnologia na reciclagem de resíduos agrícolas para agricultura sustentável, uma proteção ambiental. **Revista Internacional de Microbiologia Atual e Ciências Aplicadas**, v.2, p.446-459, 2013.
15. Cho, S. B. O que é cogumelo. In: **Cultivo de cogumelo-ostra, Manual dos Cultivadores de Cogumelos**. v.1. Coréia: MushWorld, Coréia, 2004. p. 3-5.
16. Cohen, R. L. et al. Biotechnological applications and potencial of wood- degrading mushrooms of the genus *Pleurotus*. v.58, n.5. **Applied Microbiology Biotechnology**, p.582-594, 2002.
17. Eira, A.F., Minhoni, M. T. A. **Manual teórico-prático de cultivo de cogumelos comestíveis**. 2. ed. Botucatu: Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais 1997. 115p.
18. Douillard, R.; Mathan, O. Leaf protein for food use: potential of Rubisco. In: Hudson, B. J. F. **New and Developing Sources of Food Proteins**. London: Chapman &Hall, p 307-342, 1994.
19. Putzke, J.. Myxomycetes na Região Sul do Brasil. Pp. 221-223. In: E. L. Araújo; A. N. Moura; E. V. S. B. Sampaio; L. M. S. Gustinari & J. M. T. Carneiro (eds.). **Biodiversidade, conservação e uso sustentável da flora do Brasil**. Recife, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Sociedade Botânica do Brasil, 2002.
20. Teixeira, R. S. S. Amino acids interference on the quantification of reducing sugars by the 3,5-dinitrosalicylic acid assay mislead carbohydrase activity measurements. **Carbohydrate Research**, Amsterdam, v. 363, p. 33-37, 2009.
21. Alam, N. et al. Influência de diferentes suplementos no cultivo comercial de cogumelo branco lácteo. **Microbiologia**. v. 38., jul., p.184-188, 2010.
22. Sales-Campos, C.; Andrade, M. C. N. Aproveitamento de resíduos madeireiros para o cultivo do cogumelo comestível *Lentinus strigosus* de ocorrência na Amazônia. **Revista Acta Amazonica**, p. 1-8, 2011.
23. Sánchez, J. E. V.; Royse, D. J. *La biología y el cultivo de Pleurotus spp.* **ECOSUR**, Chiapas, México, 2001, 290p.

24. Yang, W. Yield and size of oyster mushroom grown on rice/wheat straw basal substrate supplemented with cotton seed hull. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 2013, 20: 333–338.
25. Chang, S. T.; Miles, P. G.; Mushrooms: Cultivation, Nutritional Value, Medicinal Effect, and Environmental Impact. 2 ed. **Press, Boca Raton**, Florida, p. 451, 2004.
26. MORAES, L. M. P.; ASTOL FILHO, S.; ULHOA, C. J. Purification and some properties of an α -amylase glucoamylase fusion protein from *Saccharomyces cerevisiae*. **World Journal of Microbiology e Biotechnology**, Haia, v. 15, p. 561-564, 1999.
27. Miller, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ac60147a030>>.doi: 10.1021/ac60147a030.
28. Surmely, R. Hidrólise do amido. In: Cereda, M. P. (Coord.). **Tecnologia, usos e potencialidades de tuberosas amiláceas latino americanas (Série: Culturas de tuberosas amiláceas latino americanas)**. São Paulo: Fundação Cargill, v. 3, cap. 15, p. 377-448, 2003.
29. Royse, A. R. Produção de cogumelo *Pleurotus ostreatus* utilizando resíduos da cadeia agroindustrial do milho no Paraná. **Syner Scyentífica UTFPR**, Pato Branco, v. 3; n. 4, p. 1-3, 2003.
30. Kunhi, A. A. M.. Studies on production of alcohol from saccharified waste residue from cassava starch processing industries. **Starch Stärke**, v. 33, n. 8, p. 275-9, 2003.
31. Leonel, M.; Cereda, M. P. Melhoria do rendimento de hidrólise enzimática para produção de etanol a partir de farelo de mandioca. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 2, n. 1, p.111-118, 1999.
32. Saito, I. M.; Cabello, C. Influência da matéria seca da mandioca no processo de hidrólise enzimática para produção de etanol. **Revista Raízes e Amidos Tropicais**, Botucatu, v. 3, 2007.
33. WOICIECHOWSKI, A. L.; NITSCHKE, S.; PANDEY, A.; SOCCOL, C. R. Acid and enzymatic hydrolysis to recover reducing sugars from cassava bagasse: an economic study. **Brazilian archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 45, n. 3, p. 393-400, 2002.
34. WOOD, B. J. B. **Microbiology of fermented foods**. Edited by Brian J.B. Wood. London: Blackie Academic & Professional, 2011.
35. Hartmann, C. Pré-tratamento de biomassa lignocelulósica por macrofungos regionais para posterior produção de etanol de segunda geração. 2017. 95 f. **Dissertação** (Mestrado) - Universidade de Caxias do Sul, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processos e Tecnologias, 2017.
36. Binod, P. et al. Bioethanol production from rice straw: an overview. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 13, p. 4767-4774, 2010.
37. Pirota, R. D. P. B. et al. Caracterização de fungos isolados da região Amazônica quanto ao potencial para produção das enzimas envolvidas na conversão da biomassa vegetal. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 45, n. 9, p.1606-1612, 2015. Disponível em:< <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20141241>> doi: 10.1590/0103-8478cr20141241.
38. Sanchez, C. Lignocellulosic residues: biodegradation and bioconversion by fungi. **Biotechnology Advances**, v. 27, n. 21, 85-94, 2009.
39. MACHADO, A. R. G. Elaboração de um produto de panificação à base de crueira e cogumelo comestível. 2014. 66 f. **Dissertação** (Mestrado em Ciência de Alimentos). Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2014.

ANEXO I

Orientações para submissão do artigo para revista Scientia Plena

Título do trabalho: Fonte Times New Roman, tamanho 17, centralizado com letra maiúscula apenas na primeira letra da sentença.

Subtítulo: Fonte Times New Roman, tamanho 11, centralizado.

Autores: Fonte Times New Roman, tamanho 13, centralizado. Ex.: X. X. Sobrenome^{1*}; X. X. Sobrenome²

Informações dos autores: Será inserida ao final da lista de autores seguindo a mesma ordem. Com os seguintes dados: Nome do Departamento do Departamento/Laboratório/Setor, Nome da Instituição, CEP, Cidade-Estado, País e telefone. Fonte Times New Roman, tamanho 9, centralizado e itálico.

Endereço de e-mail: deve conter ao final das informações (em novo parágrafo) asterisco e o endereço de e-mail dos autores (somente um), o autor que tiver o seu e-mail disponibilizado no artigo deve ter logo após e sobreposto ao sobre nome, o asterisco. Fonte Times New Roman, tamanho 9, centralizado e itálico.

Resumo: O resumo não pode ultrapassar 250 palavras. Fonte Times New Roman, tamanho 10. Palavras-chave: Indicar até 3 palavras-chave. Ex.: palavra-chave 1, palavra-chave 2, palavra-chave 3. Fonte Times New Roman, tamanho 8. Logo em seguida (sem identificação, apenas separado por uma linha nova) inserir o abstract usando a mesma formatação do resumo e as mesmas palavras-chave. Ex.: Keywords: keyword 1, keyword 2, keyword 3.

1. INTRODUÇÃO

Na seção de Introdução do artigo, o autor deve descrever o estado-da-arte do problema, além de justificar e apresentar os objetivos do seu trabalho.

Os subtítulos devem ser numerados sequencialmente em algarismo arábico, em caixa alta, negrito e fonte Times New Roman, tamanho 11. Espaçamento de 22 pontos antes e 11 pontos depois.

2. MATERIAL E MÉTODOS

A metodologia deve ser descrita com as informações necessárias para permitir a repetição do estudo por outro pesquisador.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Resultados e Discussão podem ser apresentados em conjunto ou em subtítulos separados.

Tabelas e figuras devem ser centralizadas, com legenda objetiva e autoexplicativa. As tabelas não devem apresentar linhas verticais secundárias. Devem-se evitar tabelas e/ou figuras com poucas informações, que podem ser facilmente substituídas por texto corrido.

A legenda da figura deve ser abaixo da ilustração, centralizada, em itálico e usando Times New Roman tamanho 10. A legenda da tabela deve ser acima da tabela, centralizada, em itálico e usando Times New Roman tamanho 10. Ex.:

Tabela 1: Exemplo de modelo de tabela

Título	Título		
	Coluna 1	Coluna 2	Coluna 3
Linha 1	XXX	XXX	XXX
Linha 2	XXX	XXX	XXX
Linha 3	XXX	XXX	XXX
Linha 4	XXX	XXX	XXX

4. CONCLUSÃO

Uma conclusão deve ser apresentada com as principais contribuições do estudo.

5. AGRADECIMENTOS

Apresentar os agradecimentos pertinentes, se houver.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

As referências apresentadas são exemplos de artigos [1,2], livro [3], capítulo de livro [4], dissertações e teses [5], artigos publicados em anais de eventos científicos [6].

Toda referência que possua DOI deverá conter o respectivo número apresentado ao final da referência. Fonte Times New Roman, tamanho 10, alinhamento justificado.

OUTRAS CONSIDERAÇÕES

A **Scientia Plena** é uma publicação científica mensal e aceita manuscritos originais e inéditos, redigidos em português, inglês ou espanhol. Artigos de revisão não são aceitos para publicação.

O trabalho deve ser submetido pelo sistema eletrônico da revista em formato “doc”, com tabelas e figuras incluídas no corpo do texto. Todo o corpo do texto deve ser redigido em Times New Roman, tamanho 11, justificado e com espaçamento simples. As margens das páginas devem ser de 2,5 cm (superior e inferior) e 3,0 cm (esquerda e direita).

Todos os parágrafos devem apresentar tabulação de 0,5 cm e as tabelas e figuras devem ser citadas por extenso no corpo do texto (ex: Figura 1; Tabela 1). Ao longo do texto deve ser utilizado o sistema internacional de unidades (SI) para indicação de medidas. Para citação das referências, utilizar o Estilo Vancouver, com a numeração entre colchetes e alinhada ao texto. Exemplos: “... para determinados valores [1]...”; “...Segundo Meneton et al. (2005) [2]...”; “...estudos de raios de tórax [3]...”; “... o tamanho da amostra [4]...”; “... o uso de drogas para alívio da dor[5, 6]...”.

A lista de referências deve ser apresentada ao final do texto, em seção específica. Não usar notas de rodapé.