

## PRÉ-TRATAMENTO DA MANDIOCA COM CELULASE: PRODUTIVIDADE E ÍNDICE ECONÔMICO COMPARATIVO

ANTONIO SÉRGIO OLIVEIRA\*  
RUI SÉRGIO FERREIRA DA SILVA\*\*

Doação à Biblioteca da UEL, deixada  
pela professora do Departamento de  
Educação, Dra. Vani Ruiz Viessi. 198

### RESUMO

*Utilização da Celulase comercial no pré-tratamento da mandioca para fins energéticos, uma vez que é conhecida a possibilidade de aumento na liberação do amido intracelular pelo rompimento da parede celular lignocelulósica. Um índice econômico proposto mostrou que a relação enzima-substrato de 1% (1,0071 UI/g) conjugada a um tempo de ação de 8 horas pode ser recomendada, pelo menos a nível laboratorial.*

### 1 – INTRODUÇÃO

A mandioca, como outras matérias amiláceas, necessitam de uma conversão do amido em açúcares metabolizáveis para seu emprego como energético. Essa conversão, que exige altas temperaturas, resulta em desvantagem econômica, porque o amido se encontra protegido por compostos lignocelulósicos. Assim, a adição de celulase para aumentar a extração do amido tem por objetivo digerir os compostos celulósicos, predispondo o amido ao ataque das amilases. Além disso, proporciona o uso integral da mandioca, já que a película externa é constituída de celulose, evitando-se a operação de descascamento, com economia de tempo e energia e, possivelmente, aumentando o teor de açúcares.

QUEIROZ *alii*<sup>(16)</sup>, mencionaram que a mandioca contém em seu interior, uma fibra celulósica, que não sofre ação das enzimas – amilase e amiloglicosidade. Sua hidrólise requer a celulase como terceira enzima. Consideram que proporcionalmente, estas fibras representam uma percentagem muito pequena em relação à massa total da mandioca, não sendo, atualmente, econômico o emprego da celulase.

Como essas fibras não sofrem uma cominuição total, devem ser retiradas no decorrer do processo, para que não causem problemas nos equipamentos.

MENEZES *et alii*<sup>(10)</sup> confirmaram que quando não se utiliza a celulase, torna-se obrigatório o emprego de equipa-

mentos (desfibrador) para remoção de sólidos insolúveis.

Embora, os componentes lignocelulósicos possam ser separados por processos mecânicos, também podem ser removidos por enzimas celulolíticas, tal como, a celulase do *Trichoderma reesei*.

TOYAMA<sup>(18)</sup>, conseguiu isolar amido de batata por degradação do parênquima celulósico. Estudou, também o efeito de misturas enzimáticas sobre o isolamento do amido daquele tubérculo. Encontrando um aumento de 33,4% no rendimento de amido, em relação ao controle.

### 2 – OBJETIVO

O objetivo deste trabalho é contribuir para a utilização integral da mandioca, propondo um critério quantitativo para escolha mais adequada da celulase durante pré-tratamento enzimático da pasta de mandioca.

### 3 – MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1. – Materiais

#### 3.2 – Matéria prima

Mandioca (*manihot esculenta*) variedade Branca - Santa Catarina (SRT 59), padrão cultivada em sistema tradicional na região de Cambé - Pr, colhida manualmente ao final de dois ciclos vegetativos, na fase de repouso fisiológico, que se caracteriza pela queda das folhas. As raízes se apresentam geralmente enxu-

tas, mais grossas, fibrosas, ricas em amido, com maior produção por hectare e ideal para processamento industrial<sup>(3)</sup>.

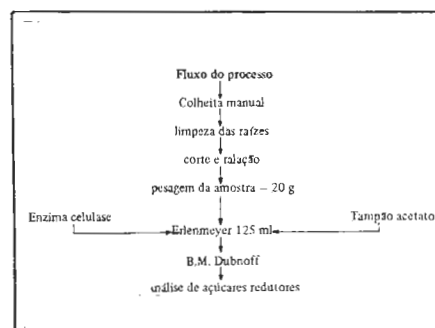
#### 3.1.2 – Enzima – Celulase

A celulase usada nos experimentos foi a celluclast<sup>TM</sup> do Novo Industri, tipo 200 LTY pen – 200 Ca VU/g.

### 3.2 – Métodos

#### 3.2.1 – Preparo da amostra

A mandioca foi colhida e processada no mesmo dia. Do total da produção foi escolhido, ao acaso, 1 kg de raízes que, após retirados da terra, foram cortadas e raladas, obtendo-se uma pasta homogênea.<sup>(7,14)</sup>



#### 3.2.2 – Determinação de umidade (%)

Foi realizada pelo método de estufa 105° C, segundo as normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz.<sup>6</sup>

#### 3.2.3 – Determinação de amido (%)

\*Professor do Departamento de Química – UEL

\*\* Professor do Departamento de Tecnologia de Alimentos e Medicamentos –UEL.

Empregou-se o método polarimétrico EEC, segundo as normas de exportação para o mercado comum Europeu.<sup>17</sup>

### 3.2.4 – Determinação de açúcares redutores (mg/glu/ml).

Utilizou-se o método DNS (Ác. 3,5 dinitrossalicílico)<sup>15</sup>. As medidas espectrofotométricas foram realizadas em 540 nm.

### 3.2.5 – Atividade celulolítica (UI/g)

Foi caracterizada pelo método do papel filtro de acordo com MANDELS<sup>(8)</sup> 1UI equivale à 1  $\mu$  mol de glucose/min ou 0,18 mg/min.

### 3.2.6 – Ensaio cinético

A determinação da relação enzima – substrato, em função do tempo, foi obtida variando-se a concentração de enzima (celulase) entre 0,26% (0,2014 UI/g), 1% (1,0071 UI/g); 5% (5,0354 UI/g) e 10% (10,071 UI/g), em relação ao teor residual de fibras do substrato (19,12). O intervalo estudado foi de 0 a 48 horas. Tempos superiores demonstraram não serem significativos. O teor residual médio das fibras como substrato, foi tomado como sendo 3% base seca. (1,5,11). Após a preparação da mandioca foram pesados 20 g da pasta homogeneizada em frascos erlenmeyers de 125 ml adicionando-se 20 ml de solução tampão acetato (pH= 4,8) e a seguir a enzima celulase<sup>(13)</sup>.

Os frascos em duplicatas, fechados com papel alumínio, foram colocados no banco Dubnoff, posição aleatorizados, à temperatura de 50<sup>o</sup> C, com agitação constante de 135 r p m, retirando-se os frascos em intervalos regulares de tempo, centrifugando-se e determinando-se açúcares redutores pelo método do DNS no sobrenadante.

Para cada frasco-teste utilizou-se um frasco controle (sem adição da enzima) Os resultados foram expressos em aumento de açúcares devido ao tratamento enzimático.

### 3.2.7 – Produtividade e índice econômico comparativo

#### 3.2.7.1 – Produtividade (P)

A produtividade (P) foi definida de modo análogo à velocidade inicial da cinética enzimática.<sup>(12,19)</sup>

Os dados do ensaio cinético foram, convenientemente, tratados para se

obter uma região de proporcionalidade.

Alocou-se o produto formado (mg glu/ml) contra o tempo (h) de incubação, para as concentrações iniciais de celulase de 0,2 % (0,2014 UI/g); 1% (1,0071 UI/g); 5% (5,0354 UI/g) e 10% (10,071 UI/g), em relação ao substrato fixado.

Ajustou-se o modelo da reta que passa pela origem, pelo método dos mínimos quadrados, conforme a seguinte relação:

$$C = P \cdot t \quad (\text{eq.1})$$

Onde:

C = Concentração de glucose mg/ml

P = Produtividade mg/h<sup>ml</sup>

t = tempo de ação da celulase em horas

A medida do ajustamento dos dados à reta de regressão foi feita pelo coeficiente de determinação ( $r^2$ ). Um bom ajustamento significa  $r^2 > 90\%<sup>2</sup>$ .

O teste estatístico “t” (p 0,05) foi utilizado com a finalidade de verificar se a inclinação (coeficiente angular) da reta de regressão difere significativamente de zero ou não.

Além disso, como o modelo prevê uma reta que passa pela origem, foi testada a hipótese (t,p < 0,005) de que a ordenada na origem (coeficiente linear) era nula. Entretanto, o nível de significância de 95% é amplo, aumentando a dificuldade de rejeição da hipótese e, conseqüentemente, do modelo.

Ainda, existe a possibilidade de um erro tipo II (aceitação da hipótese quando deveria ser rejeitada).

Para reduzir o risco desse tipo de erro, p foi alterado para 0,5 e o valor do teste “t” comparado com o calculado.<sup>4</sup>

#### 3.2.7.2 – Índice econômico comparativo (I.E)

Para enzima de origem, tipo, atividade e custo conhecido, pode-se definir, um custo relativo, como sendo:

$$\text{Custo relativo (CR)} = \frac{(E)/(S)}{P} \quad (\text{eq.2})$$

Onde:

(E) = concentração do enzima em UI

(S) = concentração do substrato em g

P = produtividade mg/h<sup>ml</sup>

definir-se também um índice econômico com fins comparativos dados pela relação:

$$\text{Índice econômico (I.E)} = \frac{P}{C \cdot R} \quad (\text{eq.3})$$

## 4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 – Ensaio Cinético, produtividade, e índice econômico comparativo.

A análise da pasta de mandioca homogeneizada, mostrou os seguintes valores médios diversas amostras:

Umidade 65%, amido 26% e açúcares livres 0,3 mg/ml.

A celulase (“celluclast”) utilizada apresentou uma atividade enzimática de 120,85 UI/ml, determinada de acordo com MANDELS<sup>(8)</sup>.

Com a finalidade de se encontrar a máxima produtividade (P), os dados do ensaio cinético (Quadro I e figuras I, II, III e IV, através de eq. 1), foram modelados para se obter uma correlação linear (Quadro II).

Foi possível modelar todas as concentrações enzima-substrato, pela equação da reta que passa pela origem, até um tempo de ação de 8 horas. Em todas as concentrações estudadas, resultou um coeficiente de determinação ( $r^2$ ) superior a 0,98, o que indica um bom ajustamento dos dados ao modelo proposto (fig. V).

Os coeficientes angulares (produtividade) são estatisticamente significativos ao nível de 1%. Além disso, para as retas de regressão obtidas, a hipótese de que o coeficiente linear (ordenada na origem) é nulo, não pode ser rejeitado mesmo ao nível de 50% de significância.

O quadro III mostra o custo relativo (CR) e o índice econômico (IE) comparativo.

O maior I.E. pode ser obtido para a relação enzima-substrato de 0,2% (0, 2014UI/g). Porém, nessa concentração não se visualiza solubilização (redução da viscosidade) até 8 horas de pré-tratamento enzimático.

Vários autores (9, 10, 11, 16) têm enfatizado a importância da viscosidade. Como tal fato ocorreu, claramente, na utilização de 1% (1,001UI/g) de enzima em relação ao substrato durante 8 horas de incubação, a escolha recaiu sobre essa condição como alternativa técnico-econômica mais adequada.

O índice econômico, possivelmente, poderia ser generalizado para comparar enzimas de diferentes origens e tipos, desde que, fossem feitos as diluições para equalização da atividade.

## 5 – CONCLUSÃO

QUADRO I  
Ensaio cinético da celulase sobre mandioca

Foi proposto um índice econômico comparativo

$IE = \frac{P}{C.R.}$  (produtividade)

C.R. (custo relativo)

que poderá vir a permitir uma melhor quantificação na escolha das condições de pré-tratamento celulolítico da pasta de mandioca.

t (h)	C (mg glu/ml)			
	0,2%	1,0%	5,0%	10%
0	0	0	0	0
1	0,0558	0,1126	0,1638	0,2892
2	0,1116	0,2252	0,3276	0,5784
4	0,2232	0,4504	0,6552	1,1568
8	0,4464	0,9008	1,3104	2,3136
16	0,4471	1,083	2,063	2,788
24	0,511	1,278	2,498	3,036
32	0,585	1,341	2,498	3,036
48	0,884	1,787	2,721	3,036

QUADRO II

Produtividade da relação enzima-substrato		
E/S (UI/g)	P (mg/ $\frac{ml}{h}$ )	r <sup>2</sup>
0,2014	0,0558	0,9881
1,0071	0,1126	0,9994
5,035	0,1638	0,9941
10,071	0,2892	0,9863

E/S = relação enzima substrato

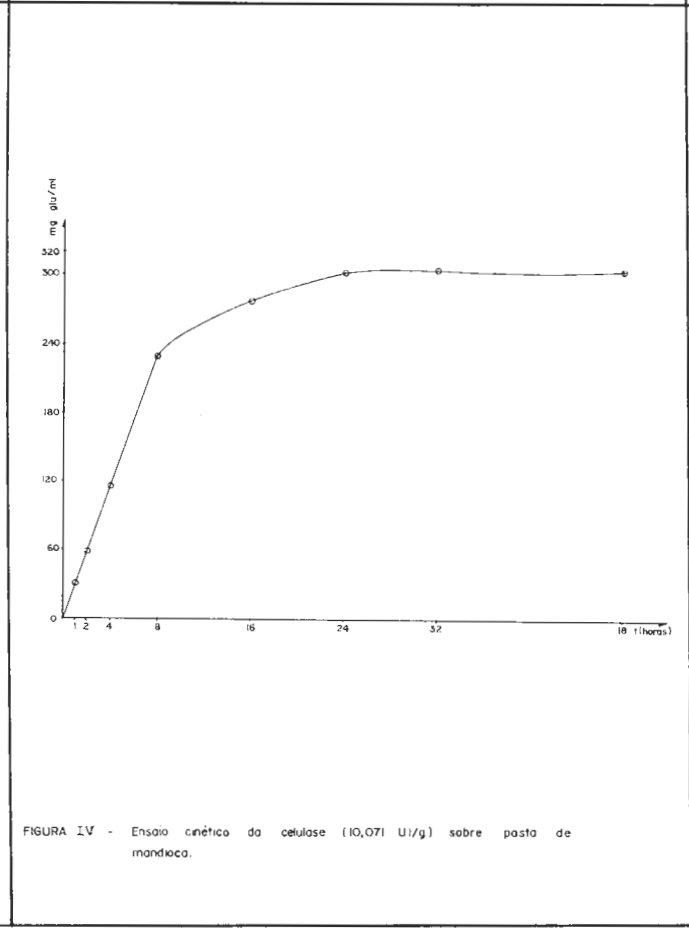
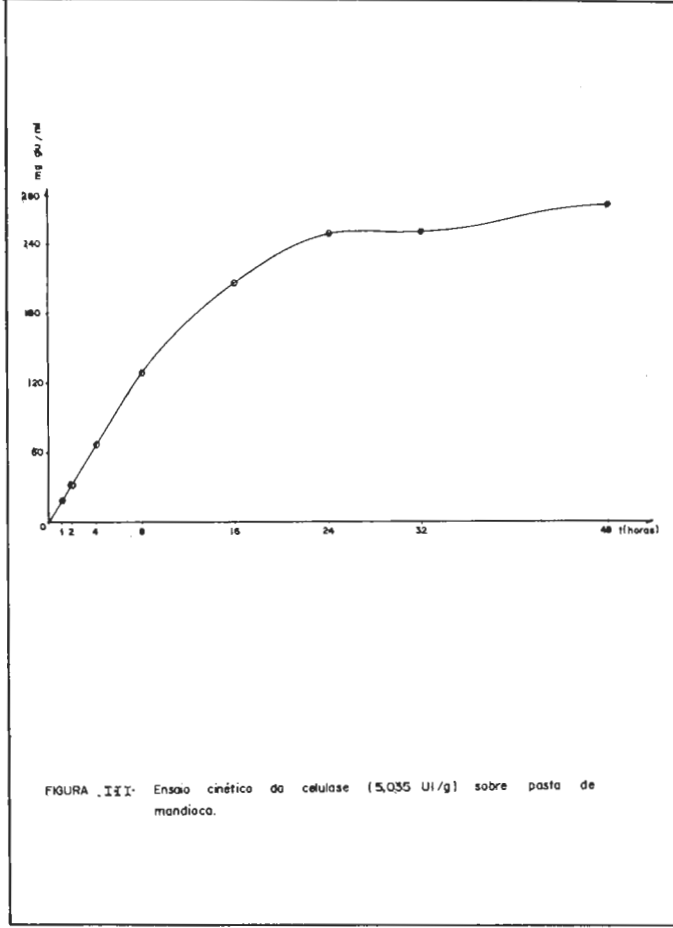
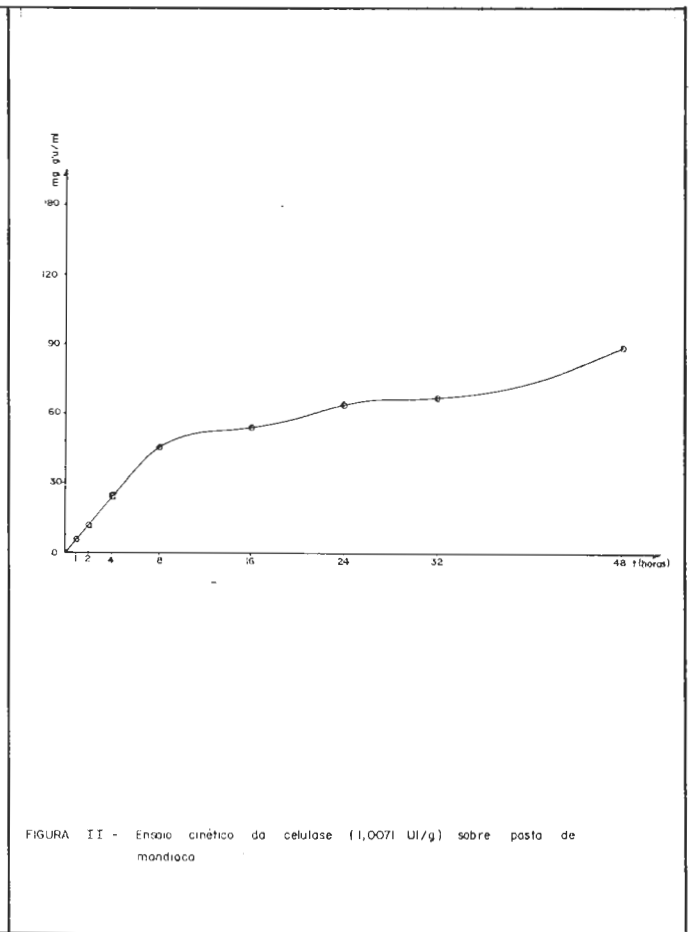
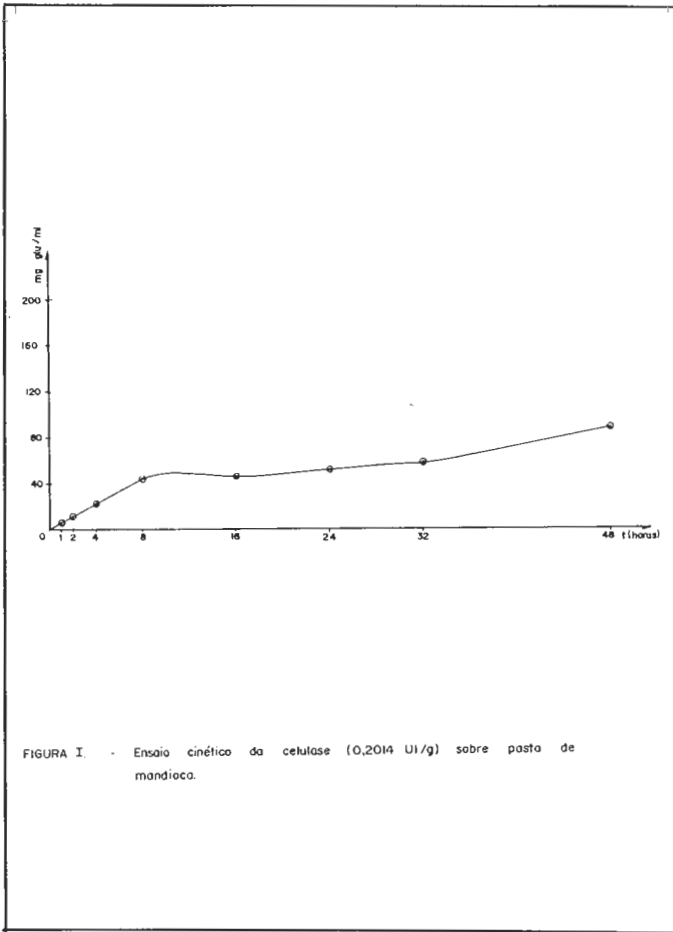
P = produtividade mg/ $\frac{ml}{h}$

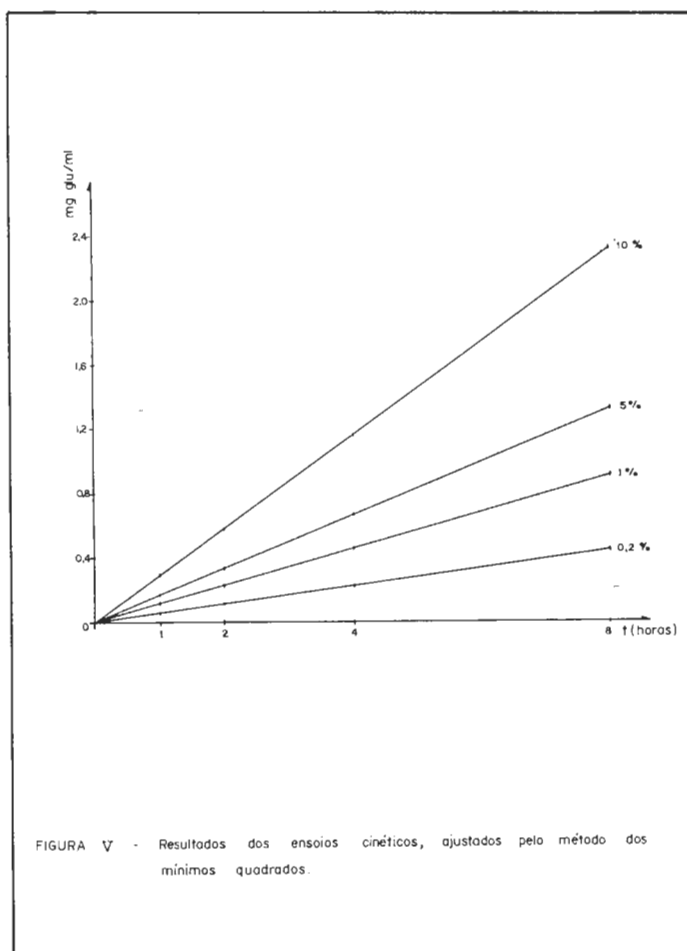
QUADRO III  
Custo Relativo e Índice Econômico Comparativo da Relação Enzima-Substrato

E/S (UI/g)	C.R.	I.E. 10 <sup>3</sup>
0,2014	3,6096	15,4
1,0071	8,9940	12,5
5,03542	30,7412	5,3
10,071	34,8236	8,3

C.R. = custo relativo

I.E. = índice econômico comparativo





## ABSTRACT

Comercial Cellulase was utilized for pretreatment of cassava for energy use. An economic index proposed had shown that 1% (1,0071. U/g) enzyme substrate relation conjugated with 8 hours reaction time could be recommended at the laboratory level.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ARAÚJO, N. de Q. et alii. Hidrólise enzimática da mandioca. *INT*, 8(9): 42-52, out/dez. 1975.
2. BENDER, F.E.; KRAMER, A.; KOHAN; G. *System analysis for the food industry*. Westport, Avi, 1976. 468p.
3. CÂMARA, G.M. de S. et alii. *Mandioca: produção pré-processamento e transformação agro-industrial*. São Paulo, Secretaria da Indústria, Comércio, Ciência e Tecnologia, Coordenadoria da Indústria e Comércio, s.d. (Série Extensão Agroindustrial, 4).
4. DRAPER, N.R. & SMITH, H. *Applied regression analysis*. New York, j. Wiley, 1966. 407 p.
5. HAYAREM, J.M. et alii. Determination of basic Chemical parameters of cassava root products of different origin, processing technology and quality. *Resumenes Analíticos sobre youcor*, 6: 12-32, 1979.
6. INSTITUTO ADOLFO LUTZ. *Cereais e amiláceos*. In ——. Normas analíticas dos Institutos Adolfo Lutz. 2 ed. São Paulo, 1976. v. 1, cap. 6.p.94-106.
7. JUSTE Jr., E.S.G. *Tecnologia da mandioca*. Lavras, Ministério da Educação e Cultura, Escola Superior de Agricultura de Lavras, 1978. 83p.
8. MANDELS, M.; ANDREOTTI, R.; ROCHE, C. Measurement of saccharifying cellulase. *Biotechnol. Bioeng. Symp.*, 6:21-33, 1976.
9. MENEZES, T.B. Caracterização bioquímica de uma celulase fungica e sua influência no rendimento de álcool de mandioca. *Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos*, 9:175-200, 1978.
10. ——. Saccharification of cassava of ettyl alcohol production. *Process Biochemistry*, 13(9):24-6, Sept. 1978.
11. ——. Fungal cellulase as and aid for the saccharication of cassava. *Biotechnol. and Bioeng.* 20(4): 555-65, 1978.
12. MONTGOMERY, R. & SWENSON, C.A. Enzyme Kinetics. In: *QUANTITATIVE problems in the biochemical sciences*. San Francisco, W.H. Freeman, 1969. cap. 11, p. 195-226.
13. NOVO ENZYMES: *celluclast* Bagsvaerd Novo Industry, 1980. 2p.
14. PACHECO, J.A. & CONAGIN, A. Amostragem de raízes de mandioca para determinação de amido. *Bragantina*, 14: 25-6, set. 1955.
15. PANEK, A.D. & MARTELLI, H.L. *Bioquímica experimental*. Rio de

- Janeiro, Ao livro técnico, 1968.
16. QUEIROZ, M.S. de et alii *produção de álcool de mandioca e suas perspectivas*. Rio de Janeiro, Petrobrás Centro de Pesquisa e Desenvolvimento Leopoldo A. Miguez de Mello, 1982. 18p.
17. SOCIEDADE BRASILEIRA DE SUPERINTENDÊNCIA. *Determinação de amido: Método E.E.C. (Mercado Comum Europeu)*. S. 1, s.d. (mimeografado).
18. TOYAMA, N. Applications of cellulases in japan. In: CELULOSES and their applications. Washington, American Chemical Society, 1969. p. 359-90. Advances in chemistry Series, 95).
19. VILLELA, C.G.; BACILA, M.; TASTALDI, H. Enzimas. In: TÉCNICAS e experimentos de bioquímicas. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1973. p. 191-269.
-