



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**  
**FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA**  
**CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA**



**APROVEITAMENTO DE RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS COMO SUBSTRATOS PARA  
PRODUÇÃO DE ENZIMAS**

MARIANA DE DEUS SILVA

**Uberlândia – MG**

2020

**APROVEITAMENTO DE RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS COMO SUBSTRATOS PARA PRODUÇÃO  
DE ENZIMAS**

Mariana de Deus Silva

Monografia de graduação apresentada à Universidade Federal de Uberlândia como parte dos requisitos necessários para a aprovação na disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso do curso de Engenharia Química.

**Uberlândia – MG**

2020

MEMBROS DA BANCA EXAMINADORA DA MONOGRAFIA DA DISCIPLINA TRABALHO DE CONCLUSÃO DE ENGENHARIA QUÍMICA DE MARIANA DE DEUS SILVA APRESENTADA À UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA, EM 22 DE DEZEMBRO DE 2020.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof<sup>a</sup> Miriam Maria de Resende  
Orientador (FEQ/UFU)

---

Prof<sup>a</sup> Larissa Nayhara Soares Santana Falleiros  
FEQ/UFU

---

Prof<sup>a</sup> Patrícia Angélica Vieira  
FEQ/UFU

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por toda força e proteção que me concede todos os dias da minha vida.

Aos meus pais Gláucia e Guilherme pelo apoio, pelo incentivo e pelas abdições que fizeram durante todo o tempo em que necessitei de forma intensa de seus cuidados. Aos meus irmãos Tiago, Lucas e João Durval que com gestos e palavras me encorajaram para que eu seguisse com força para atravessar pela graduação e pela realização deste trabalho. Agradeço também aos meus sobrinhos Thor, Luna e Diana simplesmente por existirem e serem crianças tão puras e transformadoras.

Aos professores e principalmente à minha orientadora Miriam pelo apoio, que mesmo a distância me ofereceu suporte e foi paciente durante a formulação deste trabalho.

Agradeço ao Alberto, meu namorado, aos meus amigos Kelly, Taynara e a todos que não consigo citar, que sempre estiveram presente nos melhores momentos da minha vida e que mesmo nos momentos em que não pude estar presente, continuaram me apoiando e não me deixaram desistir. Meu muito obrigado aos que não estão mais aqui, saibam que foram essenciais para o meu crescimento pessoal e profissional. Ao meu amigo Argileu que me ensinou que a vida vai muito além do que esperamos que ela seja, e que hoje é o melhor momento para fazer acontecer tudo aquilo que desejamos.

## RESUMO

O Brasil é o terceiro maior produtor e exportador de produtos agrícolas do mundo, ficando atrás somente dos Estados Unidos e da União Europeia. Devido à mecanização do campo e a expansão da fronteira agrícola, o país tem grande capacidade para um maior crescimento. Como resultado, tem-se uma quantidade significativa de resíduos, que se não tratados, impactam de forma negativa o meio ambiente, devido ao grande volume gerado e à dificuldade de decomposição. A partir de processos biotecnológicos, encontram-se alternativas para agregar valor a esses resíduos, como a produção de enzimas, que têm alto valor comercial. Enzimas são proteínas catalisadoras, onde algumas apresentam outros componentes orgânicos e são responsáveis por diversas reações bioquímicas dos sistemas vivos.

Este trabalho tem como objetivo apresentar uma revisão bibliográfica sobre a utilização de resíduos da Agroindústria como substratos para a produção de enzimas, por fermentação semi-sólida a partir de fungos, tendo em vista viabilidade econômica e diminuição de acúmulos na natureza.

**Palavras-chave:** Enzimas; Resíduos; Substratos; Fermentação.

## ABSTRACT

Brazil is the third largest producer and exporter of agricultural products in the world, behind only the United States and the European Union. Due to the mechanization of the field and the expansion of the agricultural frontier, the country has great capacity for further growth. As a result, there is a significant amount of waste that, if left untreated, negatively impacts the environment due to the large volume generated and the difficulty of decomposition. From biotechnological processes, alternatives are found to add value to these residues, such as the production of enzymes, which have high commercial value. Enzymes are catalyst proteins, where some have other organic components and are responsible for various biochemical reactions of living systems.

This paper aims to present a literature review on the use of agroindustry residues as substrates for the production of enzymes by semi-solid fermentation from fungi, in view of economic viability and reduction of accumulations in nature.

**Keywords:** Enzymes; Waste; Substrates; Fermentation.

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	8
1.1. A AGROINDÚSTRIA NO BRASIL .....	8
1.2. OBJETIVOS .....	9
1.2.1. <i>Objetivos gerais</i> .....	9
1.2.2. <i>Objetivos específicos</i> .....	9
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA .....	11
2.1. RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS .....	11
2.2. MICRORGANISMOS .....	13
2.3. ENZIMAS .....	14
2.4. FERMENTAÇÃO SEMI-SÓLIDA .....	16
2.4.1. <i>Fatores que influenciam a FES</i> .....	16
2.4.2. <i>Vantagens e limitações da FES</i> .....	19
3. PRODUÇÃO DE ENZIMAS UTILIZANDO SUBSTRATOS AGROINDUSTRIAIS .....	21
3.1. <i>Preparação do substrato</i> .....	21
3.3. <i>Fermentação</i> .....	22
3.4. <i>Atividade enzimática</i> .....	23
4. DISCUSSÃO DOS ARTIGOS CITADOS .....	26
5. CONCLUSÃO .....	27
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	28

## 1. INTRODUÇÃO

---

### 1.1. A AGROINDÚSTRIA NO BRASIL

Pesquisas conduzidas pelo Cepea (Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada) mostram que o número de pessoas ocupadas no agronegócio brasileiro somou 19,97 milhões no primeiro trimestre de 2020. De acordo com a Figura 1.1, houve uma pequena diminuição de ocupados em relação ao ano de 2019.

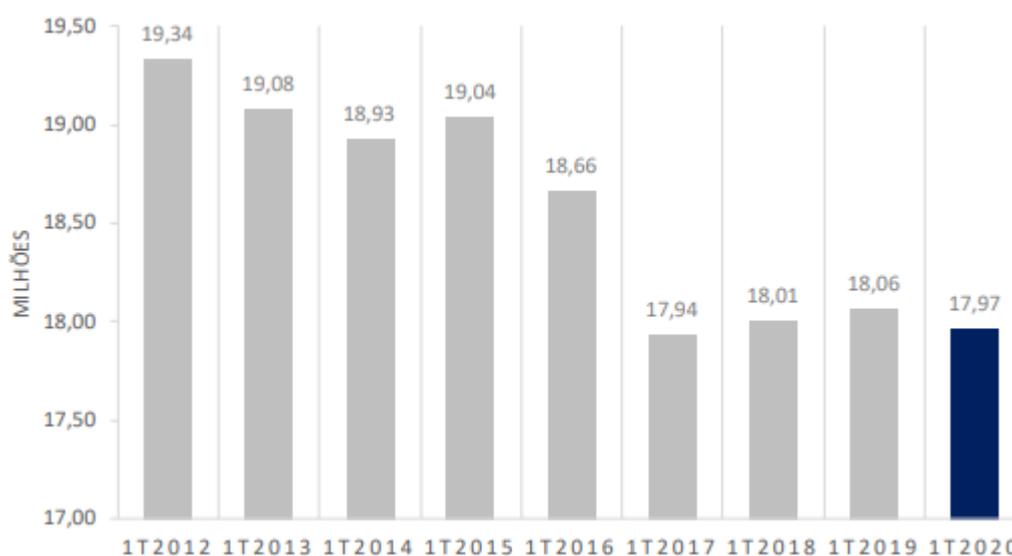


Figura 1.1 – População ocupada no agronegócio no primeiro semestre. Fonte: Cepea

Embora a agroindústria traga benefícios sociais e econômicos para o país, ela contribui para o crescimento de resíduos sólidos, como cascas e caroços, impactando negativamente o meio ambiente, sendo necessário encontrar alternativas de aproveitamento desses resíduos.

Os resíduos agroindustriais, em geral, incluem os subprodutos gerados durante o processamento industrial de produtos agrícolas ou animais ou obtidos de atividades agrícolas. Por não haver uma aplicação direta desses resíduos, pouco ou nenhum valor econômico é atribuído a eles, como é o caso da palha, caule, folhas, casca, semente e polpa de legumes e cereais (arroz, trigo, milho, sorgo, batata e cevada) e muitos outros. Contudo, açúcares, fibras, proteínas e minerais são compostos comumente encontrados na

composição desses resíduos, o que faz deles fontes alternativas de carboidratos e nitrogênio, em substituição às fontes sintéticas desses nutrientes empregadas em bioprocessos (PANESAR *et al.*, 2016).

Segundo SILVA *et al.* (2018) os impactos gerados por boa parte dos resíduos, podem ser reduzidos fazendo aplicação destes na agricultura, usando-os para cobrir e proteger o solo por exemplo, mas a outra parte não utilizada pode ser aproveitada em bioprocessos.

Segundo COUTO E SANROMÁN (2005) uma vasta gama de subprodutos agroindustriais é utilizada como substratos para a produção de enzimas, onde são observados fatores que favorecem o emprego destes, como: disponibilidade, fonte alternativa com baixo valor comercial, características físicas e químicas que favorecem o crescimento de microrganismos, dentre outros. É isso que contribui para a redução do custo operacional da produção de enzimas. Ainda nesse sentido, GOPALAN & NANPOOTHIRI (2016) afirmam que devido a rica composição dos resíduos agroindustriais, se escolhidos da forma correta, o custo total da produção de enzimas seria reduzido de forma significativa, mostrando ser benéfico a utilização destes como substrato para a fermentação.

PANDEY (2003) afirma que a fermentação semi-sólida é simples e de baixo custo, pois necessita de pouco espaço para operar, tem baixo teor de umidade trazendo menores índices de contaminação, maior concentração de produtos formados e facilidade de extração dos seus produtos, que pode ser feita com água, não sendo necessário o uso de solventes. Nos últimos anos a FES tem recebido grande interesse em países com abundância de biomassa e de resíduos agroindustriais, celulósicos ou amiláceos, levando à menor produção de resíduos indesejáveis.

## **1.2. OBJETIVOS**

### **1.2.1. Objetivos gerais**

O presente trabalho tem como finalidade realizar a revisão bibliográfica a cerca do aproveitamento de resíduos agroindustriais para a produção de enzimas, tendo em vista a redução de descartes na natureza e a valorização destes subprodutos.

### **1.2.2. Objetivos específicos**

- 1 – Descrever os resíduos abordados e seus impactos para o meio ambiente.
- 2 – Avaliar a possibilidade de aproveitamento desses resíduos como substratos.
- 3 – Definir os microrganismos e substratos utilizados para a produção de enzimas.
- 4 – Comentar sobre trabalhos já realizados com o intuito de aproveitamento dos resíduos da Agroindústria para a produção de enzimas.

## 2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

---

### 2.1. RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS

É uma das preocupações da humanidade e conseqüentemente da agroindústria, a produção com tecnologias limpas, economia de recursos, reciclagem e ou reaproveitamento dos resíduos. Isso se deve ao crescimento da população mundial, onde se faz necessário o aumento da produção, e com isso, um aumento de impactos ambientais e elevados níveis de resíduos.

De acordo com MATOS (2005), os resíduos proporcionam sérios problemas de poluição no solo e em águas superficiais e subterrâneas se não forem adequadamente tratados, pois eles são ricos em macro e micronutrientes. Os impactos devem-se a fermentação do material, gerando maus odores e causando redução do oxigênio dissolvido em águas superficiais e também à degradação da matéria orgânica, sendo um ambiente de proliferação de microrganismos, moscas, mosquitos, baratas e ratos.

Resíduos da agroindústria de processamento de produtos de origem vegetal e animal apresentam em suas composições diferentes constituintes, que abrem muitas oportunidades de agregação de valor. Além de criar potenciais problemas ambientais, os resíduos apresentam perdas de matérias-primas e energia, exigindo investimentos significativos em tratamentos para controlar a poluição (PELIZER *et al.*, 2007). Os resíduos contêm substâncias ricas, que se tratados com tecnologia adequada, oferecem produtos de alto valor agregado como as enzimas.

Segundo PANDEY (2003), os resíduos ou subprodutos agroindustriais são caracterizados como materiais heterogêneos, que atuam como fonte de carbono e de energia e como suporte para crescimento microbiano por serem compostos principalmente por celulose, hemicelulose, lignina, amido, pectina e proteínas. Pesquisas sobre a composição e caracterização dos resíduos gerados têm sido realizadas com o objetivo de que os resíduos residuais possam ser colocados em aplicações de valor agregado com possível tecnologia (VIEIRA *et al.*, 2009).

Vários resíduos agroindustriais são usados como fontes alternativas de substratos para a produção de enzimas, devido à disponibilidade local e por representar uma fonte de baixo

valor comercial, principalmente quando o objetivo é a produção destas enzimas em larga escala (HERNANDEZ *et al.*, 2002).

ARAÚJO (2013) utilizou casca de coco verde, bagaço de laranja lima e sabugo de milho como substratos. No trabalho de FERNANDES (2016) o substrato estudado advém da cana de açúcar, que de acordo com a AGEITEC (Agência Embrapa de Informação Tecnológica), possui subprodutos que podem ser utilizados na alimentação humana e animal, na fertilização de solos e na cogeração de energia. A casca de coco verde também foi utilizada por JÚNIOR (2014), que isolou um fungo produtor de celulase da casca do coco verde para a fermentação. PETRU *et al.* (2019) utilizou farelo de arroz como substrato para produção de lipase.

O Brasil é o maior produtor mundial de cana de açúcar, sendo que de acordo com a Conab a área colhida está estimada em 8,38 milhões de hectares para a safra 2019/2020 e a produção de cana-de-açúcar para o mesmo período é de 622,3 milhões de toneladas. A região Centro-Sul responde a 90% do total, enquanto os 10% restantes estão na região Norte-Nordeste de acordo com dados divulgados pela Unica (União da Indústria de Cana-de-açúcar).

Após o processamento da cana tem-se uma grande quantidade de subprodutos gerados, que podem ser usados na queima para geração de energia ou também como substratos para a produção de enzimas. Segundo CANILHA (2012), o bagaço de cana é a fração residual do colmo da cana gerado após a moagem. Grande parte (aproximadamente 88%) do bagaço gerado na moagem da cana é normalmente utilizada nas próprias usinas sucroalcooleiras para geração de energia elétricas e calor através da queima, que normalmente suprem o processo de produção de açúcar e etanol. Considerando a palha da cana-de-açúcar, aproximadamente 220 milhões de toneladas deste material são gerados anualmente e cerca de metade normalmente não é transportada para as usinas junto com o colmo, permanecendo no campo onde promove o uso sustentável do solo (FERREIRA-LEITÃO *et al.*, 2010).

Segundo CANILHA *et al.* (2012) os subprodutos da cana-de-açúcar podem ser convertidos a etanol de segunda geração e também como fonte de nutrientes para desenvolvimento de microrganismos e produção de enzimas com aplicações industriais. O enriquecimento e o pré-tratamento dos substratos tem sido adotados em FES como

alternativas para contribuir com um maior fornecimento de nutrientes, permitindo que os microrganismos cresçam mais facilmente.

No Brasil, o milho é aproveitado ainda imaturo para colheita, como no caso do milho verde, geralmente consumido cozido, assado ou em conservas, e utilizado na fabricação de inúmeros pratos doces e salgados, como cuscuz, pães, bolos, polentas, pamonhas, curau, creme de milho, óleo, xarope e farinha. A partir do milho, obtêm-se centenas de derivados, empregados em varias industriais, a exemplo das de bebidas (licores, refrigerantes, vinhos, cerveja, entre outros), de fermentação (enzimas, acetonas e outros), química e mecânica (fundição de metais, plásticos, entre outros) (CARDOSO *et al.*, 2011).

De acordo com SILVEIRA (2010), os resíduos do milho são na maioria das vezes descartados ou subutilizados e estudos de seus potenciais biotecnológicos são ainda incipientes. Ressalta ainda que para cada 110 kg de espigas de milho, aproximadamente 18 kg são formados pelo sabugo.

## 2.2. MICRORGANISMOS

PANDEY (1992) afirma que o microrganismo para FES deve ser selecionado de maneira adequada, por ser um elemento muito importante na fermentação, que devem possuir alta eficiência de conversão do substrato em produto e também para que o microrganismo não produza substância incompatível com o produto desejado.

A temperatura para o crescimento dos fungos está entre 30°C e 35°C, mas o ótimo para a maioria está entre 20°C e 30°C. O pH em torno de 6,0 é considerado ótimo para a maioria das espécies (PUTZKE, 2004).

O cultivo de espécies de *Pleurotus* é comumente realizado em substratos que possuam fibras de celulose como palhas, serragens, papel, cavacos de madeira, papelão, bagaço de cana, dentre outros materiais de baixo ou nenhum custo (MANDEEL *et al.*, 2005). Esses fungos são naturalmente encontrados nas florestas úmidas tropicais e subtropicais de todo mundo e podem ser cultivados artificialmente (BONATTI, 2004). São cogumelos com excelentes características organolépticas, constituindo ainda uma boa fonte de proteína, vitaminas e sais minerais, contendo baixo teor em glicídios e lipídios. As várias espécies diferem entre si, essencialmente pela cor do chapéu, temperatura de frutificação, necessidades nutritivas e tempo de incubação (RAMOS *et al.*, 2003).

Segundo PALLU (2010), as espécies pertencentes ao gênero *Penicillium* têm sido utilizadas como modelo em estudos básicos, porém muitas pesquisas aplicadas têm demonstrado o seu enorme potencial biotecnológico. Algumas espécies podem ser utilizadas no biocontrole, micoparasitismo, utilização de seus metabólitos secundários para diversas indústrias, são fontes de enzimas de interesse industrial e novos fármacos para a indústria farmacêutica.

De acordo com ROSA et al. (2002), as espécies que compõe o gênero *Aspergillus* tem ampla distribuição mundial, presentes na superfície, ar e água, organismos vegetais e animais, e estão associados com a deterioração de materiais vegetais e alimentos, em climas tropical e sub-tropical. Muitas espécies são utilizadas para produção de enzimas, biossíntese química e transformação de compostos.

### **2.3. ENZIMAS**

Os resíduos agroindustriais, de uma forma geral, apresentam em sua composição celulose, hemicelulose e lignina (TAMANINI e HAULY, 2004), justificando o fato de que a celulase e pectinase ocupam posição de destaque dentre as enzimas mais produzidas em FES a partir de resíduos agroindustriais.

BERG et al. (2012) afirma que enzimas são proteínas que são catalisadores biológicos macromoleculares que melhora a taxa de vários processos metabólicos. Sua atividade é influenciada pela presença de inibidores ou ativadores, por fatores como temperatura, pH e força iônica, que alteram a estrutura tridimensional das enzimas, prejudicando sua funcionalidade.

Segundo VIGNESWARAN et al. (2014) as moléculas de enzima possuem uma sintetização complexa por meios químicos, por isso deve-se utilizar organismos vivos para atividade de fermentação, onde os processos são realizados em condições geralmente amenas.

Nesse trabalho, definiremos somente as enzimas celulase, lacase, lipase, pectinase e xilanase, pois estas foram as enzimas produzidas nos trabalhos abordados.

De acordo com MOJSOV (2016) a pectinase é uma enzima que degrada a pectina presente na parede celular primária e na lamela média das plantas. Elas são aplicadas em diversos ramos da indústria, mas o alto custo de sua produção é limitante para sua aplicação

em larga escala. Uma vantagem é imobilizar suas células microbianas em matriz sólida inerte, para reciclar a cepa produtor e assim reduzir seu custo de produção (EJAZ E SOHAIL, 2020).

MAYER & STAPLES (2002) afirma que a lacase vêm sendo estudada para aplicações em biodegradação de xenobióticos e efluentes industriais, descoloração de corantes, biorremediação de solos contaminados, produção de etanol, clarificação de vinhos e chás, e produção de biossensores. A grande variedade de substratos que a lacase é capaz de hidrolisar é uma característica extremamente interessante, que direciona o seu emprego, principalmente, na biorremediação de compostos recalcitrantes convertendo-os em estruturas menores sendo, portanto, mais fáceis de serem absorvidos pelo solo. (MACIEL; CASTRO E SILVA; RIBEIRO, 2010).

Segundo CASTRO & PEREIRA JR. (2010) celulasas são enzimas que hidrolisam materiais celulósicos. Estas enzimas são biocatalisadores altamente específicos que atuam em sinergia para a liberação de açúcares, onde a glicose é de maior interesse industrial, por ter o poder de ser convertido em produtos de maior valor agregado.

Celulasas têm uma grande importância em aplicações industriais, como no processamento de alimentos e sucos; na indústria de papel de celulose, na biorremediação de poluentes industriais, indústria de lavanderia e detergentes para limpeza de tecidos, e na indústria farmacêutica quando agem na extração de compostos produzidos pelas plantas (SHARMA *et al.*, 2016).

Lipases compreendem um grupo de enzimas hidrolíticas que apresentam a capacidade única de agir na interface óleo/água, catalisando a hidrólise de óleos e gorduras com a liberação de ácidos graxos, diacilgliceróis, monoacilgliceróis e glicerol (CARVALHO *et al.*, 2003). As lipases são encontradas em tecidos de vários animais e plantas, e podem ser produzidas por fermentação usando várias espécies de microrganismos (DALLA-VECCHIA; NASCIMENTO; SOLDI, 2004).

Segundo CHANDRAKANT e BISARIA (2000), as xilanasas possuem um grande potencial em na área da biotecnologia. Elas estão envolvidas na bioconversão da xilana, presente em grandes quantidades em resíduos agrícolas e em resíduos provenientes de indústrias alimentícias, em xilose, o qual age como substrato na obtenção de etanol, por processos fermentativos, entre outros.

## 2.4. FERMENTAÇÃO SEMI-SÓLIDA

Segundo RAHARDJO et al. (2006), a fermentação em estado sólido (FES) é definida como o crescimento de microrganismos em substratos sólidos, na ausência de água livre. A FES tem recebido grande atenção nos últimos anos, pois o sucesso no desenvolvimento de bioprocessos em FES está a vários aspectos gerais, incluindo a adequação de diferentes tipos de microrganismos, substratos e parâmetros de processo.

Existem vários tipos de microrganismos utilizados no processo FES, incluindo fungos, leveduras e bactérias. Entretanto, fungos do gênero *Aspergillus*, *Penicillium* e *Rhizopus*, e leveduras do gênero *Candida*, *Saccharomyces* e *Aureobasidium* são os mais comumente relatados pelo motivo de que a FES pode fornecer um habitat natural similar, que tem baixa atividade da água nos meios de fermentação (YAZID et al., 2017).

SANTOS et al. (2006) afirma que os processos de FES englobam as mesmas operações unitárias, sendo necessário selecionar de forma cuidadosa as matérias-primas a serem utilizadas, os tratamentos prévios para os substratos, preparo de inóculos específicos, fermentação e controle da mesma, separação e purificação de produtos que se deseja obter.

Os principais microrganismos cultivados em meio sólido são os fungos filamentosos, pois os meios sólidos se assemelham aos meios naturais (solos) de desenvolvimento desses fungos e suas formas de desenvolvimento vegetativo são constituídas por hifas aéreas ramificadas (SANTOS et al., 2006).

De acordo com ARAÚJO (2013), a fermentação semi-sólida é uma alternativa de aproveitamento de resíduos agroindustriais, tornando-os produtos de alto valor agregado como enzimas e ácidos orgânicos. Dessa forma, por meio da FES, é possível a obtenção de produtos de interesse, com destaque na produção de enzimas como as amilases, proteases, xilanases, celulasas e pectinases (MONTEIRO; SILVA, 2009).

### 2.4.1. Fatores que influenciam a FES

A seleção de substratos adequados para este tipo de fermentação também desempenha um papel fundamental para uma produção eficiente e econômica do produto final desejado. Ao selecionar substratos é importante garantir a disponibilidade e custo dos substratos, que possam fornecer nutrientes adequados e suporte físico para o

desenvolvimento dos microrganismos. Resíduos orgânicos de processamento agrícola, industrial, e os resíduos alimentares domésticos são os substratos mais adequados para serem usados devido à sua abundância com baixo ou nenhum custo e sua composição química. Além disso, usando esses resíduos orgânicos como substratos, os problemas de poluição ambiental podem ser minimizados. No entanto, em alguns casos, a adição de suplementos deve ser empregada aos resíduos, com a finalidade de facilitar o desenvolvimento do microrganismo. Em outros casos, pré-tratamento químico ou mecânico, especialmente para materiais lignocelulósicos, é necessário devido à inacessibilidade de certos nutrientes pelos microrganismos (YAZID *et al.*, 2017).

Outros aspectos importantes para melhorar a eficiência do FES são a seleção e otimização de variáveis de processo, incluindo a umidade inicial, tamanho de partícula, pH, temperatura, composição de mídia, esterilização, atividade da água, densidade do inoculo, agitação, aeração e extração do produto (PANDEY, 2003).

Na FES, a água está relacionada a dois parâmetros que são a atividade de água ( $a_w$ ) e a umidade. A  $a_w$  é um parâmetro termodinâmico relacionado ao potencial químico da água, ou seja, a quantidade de moléculas de água disponíveis nas vizinhanças imediatas das partículas do substrato. Já a umidade, diz respeito à porcentagem de água na massa total do meio. Para o entendimento da FES, a umidade tem se mostrado menos elucidativa que a atividade da água, pois esta última afeta diretamente o crescimento microbiano e a síntese de metabólitos (PINTO *et al.*, 2005).

Dessa forma, atividade de água  $a_w$  é um dos fatores que determina o microrganismo a ser utilizado na fermentação semi-sólida. Os valores de  $a_w$  na ordem de 0,95 – 0,98 podem ser considerados típicos para os meios das fermentações semi-sólida. Este nível de  $a_w$  é ideal para o crescimento de fungos, especialmente os filamentosos (MITCHELL; KRIEGER; STUART, 2000).

O substrato com a umidade adequada deverá apresentar condições para que haja transferência de nutrientes e de oxigênio. No entanto, as partículas devem apresentar aberturas que facilitam a passagem de gases e do calor. Portanto um alto teor de umidade acabaria prejudicando a porosidade do meio, e a assim diminuiria as trocas dos gases e aumentaria a temperatura interna do meio. Entretanto, se a umidade for muito baixa irá prejudicar o crescimento do microrganismo, portanto irá influenciar no produto final em

interesse. A umidade na fermentação sólida pode variar de 18 a 85%, variando em função da capacidade de absorção do meio de cultivo utilizado (DEL BIANCHI *et al.*, 2001).

O tamanho da partícula é requisito muito importante, pois está diretamente associado às trocas gasosas, ao crescimento do microrganismo e a disponibilidade de recursos para o consumo do microrganismo. Portanto, é importante a escolha do tamanho das partículas, porque partículas pequenas oferecem uma maior área de contato, o que é importante para o crescimento do microrganismo, porém partículas muito pequenas acabam se aglomerando, dificultando assim a respiração e aeração do meio fermentativo, ocasionando um baixo crescimento do microrganismo. No entanto, partículas maiores favorecem uma melhor respiração e aeração, porém limita o crescimento do microrganismo. Assim é importante determinar o tamanho adequado de partícula para satisfazer a condição respiração/aeração e o crescimento microbiano (HASAN, 2002).

O controle do pH durante a FES é muito difícil de ser realizado devida à heterogeneidade e consistência do material. Uma maneira de controlar a variação do pH é a utilização de substratos com boa capacidade tamponante ou adição de soluções-tampão durante a etapa de umidificação do substrato (SCHMIDELL *et al.*, 2001).

Segundo PALMA (2003), para determinar de forma exata o pH em substratos sólidos, a medida deve ser feita no início e no fim do processo fermentativo. BRAND (2000) afirma que as variações de pH se devem às atividades metabólicas dos microrganismos, que produzem ácidos durante o processo, diminuindo o pH, e que também consomem esses mesmos ácidos e formam compostos como uréia, que elevam o pH.

A FES é caracterizada por ser um processo exotérmico, pois grandes quantidades de calor são liberadas, dessa forma, a temperatura é diretamente proporcional à atividade metabólica do microrganismo. Para os fungos filamentosos, a temperatura influencia diretamente na germinação dos esporos, crescimento e formação de produtos. A temperatura é um fator crítico, devido ao acúmulo de calor metabólico gerado, nesse contexto, o calor gerado deve ser dissipado. Já que altas temperaturas não são favoráveis para o crescimento dos microrganismos e para a formação do produto (PINTO *et al.*, 2006).

A maioria dos microrganismos utilizados no processo semi-sólido são mesófilos, com uma temperatura ótima de crescimento em torno de 30°C. Nesse contexto, elevadas temperaturas do meio levam a uma redução no crescimento microbiano, ou até a

interrupção na produção de substâncias de interesse. A secagem do meio sólido é outro problema ocasionado por aumentos na temperatura, com diminuição dos níveis de umidade do meio. Isso pode conduzir à diminuição nos valores de  $a_w$ , tornando-os inibitórios ao crescimento celular. Dessa forma, o controle da temperatura durante o processo fermentativo precisa ser rigoroso. Para tanto, a escolha de biorreatores e condições operacionais adequados é fundamental para a boa condução do processo (RODRIGUES, 2005).

#### **2.4.2. Vantagens e limitações da FES**

Nos últimos anos, houve uma crescente tendência em se utilizar o processo de fermentação em estado sólido para obtenção de enzimas, considerando a maior produção, menor repressão catabólica e, ainda, esse processo geralmente permite a obtenção de proteínas com maior termoestabilidade e tolerância ao pH (AGUILAR *et al.* 2004).

Este processo apresenta algumas vantagens em relação à fermentação submersa (FSM), tais como: maior concentração dos produtos formados; menor espaço necessário para equipamentos; condições de crescimento de fungos filamentosos mais similares às de seu habitat natural; redução de riscos de contaminação bacteriana, pela menor atividade de água do substrato (RODRÍGUEZ COUTO & SANROMÁN, 2006).

A FES também requer, como qualquer processo biotecnológico, controles sobre o crescimento microbiano e condições de cultivo. Algumas condições biológicas, físico-químicas e ambientais podem afetar diretamente o processo de FES e isso também vai depender do tipo de substrato e microrganismo utilizados. Tempo de fermentação, temperatura, pH, umidade, atividade de água, substratos e fatores nutricionais são algumas das condições envolvidas nesse processo e determinantes para alcançar uma boa produção de enzimas (KRISHNA, 2005).

Por outro lado, algumas limitações são apresentadas, como a heterogeneidade do meio da FES, que dificulta o controle do crescimento celular, entre outros parâmetros como pH, agitação, concentração de nutrientes e produtos. A difícil canalização do calor que foi gerado em consequência do metabolismo microbiano, podendo afetar a umidade do meio, e também a restrição da variedade de produtos que podem ser gerados devido aos micro-

organismos que restritamente são selecionados pelo seu desenvolvimento apenas em baixos níveis de umidade (PALMA, 2003).

### **3. PRODUÇÃO DE ENZIMAS UTILIZANDO SUBSTRATOS AGROINDUSTRIAIS**

---

Diversos artigos vêm sendo publicados com o intuito de aproveitamento de resíduos agroindustriais, devido à grande quantidade disposta no meio ambiente e às propriedades ótimas como substratos para a produção de enzimas de alto valor comercial. Abaixo serão apresentados trabalhos que abordam esse tema, destacando o processo de preparo do substrato, condições para crescimento do microrganismo e por fim a atividade das enzimas.

#### **3.1. Preparação do substrato**

No trabalho de ARAUJO (2013) os resíduos de coco, bagaço de laranja e sabugo de milho foram dilacerados e cortados em pequenos pedaços, seguido por lavagem e sanitização com hipoclorito de sódio a 100 ppm pelo tempo de 15 min. Após esse processo, foi feita a secagem dos resíduos a 50°C até obter peso constante, onde foram moídos em moinho de facas do tipo Willye em peneira de 30 mesh, e dispostos em embalagens plásticas vedadas.

JUNIOR (2014) partiu do mesmo processo de preparo do substrato e especifica a utilização de secador do tipo bandeja a 70°C, onde foi realizada a desidratação da casca do coco por cinco dias. Diferente do trabalho anteriormente citado há a utilização de peneira de 20 mesh para a classificação do substrato.

FERNANDES (2016) utilizou o bagaço de cana-de-açúcar como substrato que após a lavagem passou por um processo de secagem em estufa a 50°C por 48 horas. O bagaço foi triturado em liquidificador comercial e selecionado através de peneiras Mesh para seleção de grânulos entre 2,0 e 10,0 mm, sendo armazenados até o início do processo de fermentação.

PUTRI et al (2019) utilizou farelo de arroz como substrato que foi suplementado com 65% de água destilada, 1,5% de glicose, 0,34% de  $\text{NH}_2\text{CONH}_2$ , 0,75% de  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 0,3% de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0,0375% de  $\text{CaCl}_2$ , 1,8% de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  e 0,045% de  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ .

### 3.3. Fermentação

FERNANDES (2016) utilizou como microrganismo o *Pleurotus ostreatus*, onde foi mantido em placas de Petri com Ágar Batata Dextrose (PDA) com incubação em estufa a 28°C durante 7 dias, seguido de armazenamento a 4°C. Em seguida foi adicionado em erlenmeyers de 250 mL, 5 g de bagaço de cana-de-açúcar e 15 mL de solução de sais que continha  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ,  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ ,  $MnSO_4 \cdot H_2O$ ,  $CaCl_2$ ,  $CoCl_2$ ,  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$  e o pH foi ajustado para 5,5. Para a fermentação foram separados plugs circulares de mais ou menos 15 mm e depositados sobre o substrato com o micélio voltado para cima. Os erlenmeyers foram inoculados em estufa a 28°C em regime estático por 288 h.

No trabalho de JÚNIOR (2014) foi utilizado o fungo *Penicillium chrysogenum* como o microrganismo. O fungo foi inoculado em placas contendo Agar batata dextrose (PDA), que foram encubadas a  $\pm 28^\circ C$  por 7 dias. Para cada Erlenmeyer de 125 mL, foram adicionados 4,6 g de sabugo de milho seco e moído e adicionado 6 mL de solução de nutrientes. Essa solução possuía fosfato de potássio monobásico, sulfato de zinco heptahidratado e sulfato de ferro II heptahidratado e peptona. A FSE foi realizada em Erlenmeyer de 250 mL contendo 5 g de material composto por bagaço de coco, utilizando o *Penicillium chrysogenum* com  $1 \times 10^6$  esporos/mL. O pH foi corrigido para 3, 5 e 7. Os frascos foram inoculados e incubados à 30°C.

ARAÚJO (2013) utilizou o fungo *Aspergillus niger* como microrganismo e este foi cultivado em Agar Batata Dextrose (PDA). Para a fermentação foi adicionado em Erlenmeyer de 250 mL, 7,5 g da farinha do resíduo e 9 mL da solução nutriente, composta por  $(NH_4)_2SO_4$ ,  $MnSO_4$ ,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ,  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ ,  $KH_2PO_4$ ,  $MnSO_4$ ,  $CaCl_2$ . Houve também ensaio com mistura de 5 g de farinha de bagaço de laranja com 2,5 g de farinha de casca de coco e 9 mL de solução nutriente. Após a inoculação, os erlenmeyers ficaram em estufa bacteriológica a 30 °C.

PUTRI et al. (2019) também utilizaram para a fermentação o fungo *Aspergillus niger*, que foi mantido em meio de ágar batata dextrose (3,9%) em placas de Petri a 4°C, sendo subcultivadas todas as semanas, onde as subculturas foram feitas a temperatura ambiente e incubadas por 4 dias a 30°C. O substrato foi esterilizado e misturado com os nutrientes e o indutor (azeite de oliva, óleo de gergelim e óleo de Jatropha). O meio de fermentação foi colocado em biorreator de badeja com altura máxima de 3,2 cm da base. O fungo foi

inoculado no meio de fermentação e incubado em condições anaeróbicas e temperatura ambiente por 5 dias.

### 3.4. Atividade enzimática

FERNANDES (2016) em sua pesquisa analisou a cinética de produção de lacase por *Pleurotus ostreatus* em batelada, a partir de ensaios que duraram 14 dias. Foi observado que a maior atividade enzimática se deu entre os dias 5 e 12, exceto a atividade do dia 10. Considerou-se a produção de lacase através de diferentes composições do meio de cultivo utilizando o bagaço de cana como substrato para o fungo. Avaliou-se ainda a influência das variáveis: sulfato de amônio, extrato de malte, extrato de levedura e sulfato de cobre. Observou-se que a maior atividade enzimática ocorreu aos 7 primeiros dias de fermentação, decaindo ao décimo dia. A maior atividade enzimática encontrada foi de  $833,83 \text{ U L}^{-1}$ , onde foram adicionadas  $2,5 \text{ g L}^{-1}$ , de sulfato de amônio,  $2,5 \text{ g L}^{-1}$ , de extrato de malte,  $2,5 \text{ g L}^{-1}$ , de extrato de levedura e  $150 \mu\text{M}$  de sulfato de cobre simultaneamente no cultivo.

A presença de glicose em altas concentrações suprime a produção de lacase, de fato foi constatado que as menores atividades da enzima foram encontradas onde os meios foram suplementados com altas concentrações de glicose ( $5$  e  $9 \text{ g L}^{-1}$ ). Uma hipótese para o ocorrido é de que a presença de glicose inibe os genes de produção enzimática, utilizados para metabolizar outras fontes de carbono.

Resultados satisfatórios foram obtidos onde o sulfato de cobre foi adicionado. Segundo FERNANDES (2016), este componente tem sido documentado como bom indutor da atividade de lacase. Em seu trabalho, o sulfato de amônio foi a variável que exerceu maior influência nos resultados de fermentação, sendo sempre positiva. O sulfato de cobre apresentou resultado negativo, onde as maiores atividades obtidas foram com menores valores de sulfato de cobre. Quanto menor a concentração dos extratos de malte e de levedura, maior foi a atividade enzimática.

JÚNIOR (2014) realizou a extração enzimática após 120 horas de fermentação. Foram realizadas amostragens a cada 24 horas por um período de 10 dias, onde foram determinadas atividades de celulase, xilanase, açúcares redutores totais, proteínas totais e celulose residual.

As fermentações ocorreram com a temperatura de 30°C. O pH e a umidade não influenciaram significativamente a produção da Avicelase, mas o pH influenciou bastante a atividade da CMCase. Para a atividade da xilanase foi observado que a umidade e o pH influenciaram significativamente sua produção. Para a atividade de FPase não houve produção significativa. O maiores valores atingidos para atividade Avicelase foi de 20  $UL^{-1}$  com umidade de 70,5% e pH 5; com umidade de 75% e pH 7 foi observado a maior atividade enzimática da CMCase e da xilanase com valores de 233  $UL^{-1}$  e 735  $UL^{-1}$ , respectivamente.

JÚNIOR (2014) ressalta que o aumento da atividade enzimática em função do tempo de fermentação está associado à alta concentração de açúcares redutores na matéria prima, necessários para o desenvolvimento do microrganismo. Após apresentar os picos máximos de atividade enzimática, houve redução das mesmas, devido ao esgotamento de nutrientes ou acúmulo de produtos inibidores da síntese enzimática ou do crescimento celular. Os resultados obtidos sugerem que a ação da xilanase ao hidrolisar a fração celulósica, provoca abertura das fibras, facilitando o acesso das endoxilanas e maior conversão da fração hemicelulósica a açúcares como a xilose.

ARAUJO (2013) observou maior formação de poligalacturonase e pectinase com 792  $UL^{-1}$  e 1320  $UL^{-1}$  respectivamente, em 24 horas de fermentação no processo com casca de coco. As maiores atividades de poligalacturonase e pectinase para o bagaço de laranja se deram com 51 horas de fermentação com atividades de 3360  $UL^{-1}$  e 540  $UL^{-1}$ , respectivamente.

A produção de avicelase para 142h de fermentação foi de 50  $UL^{-1}$  e de carboximetilcelulase foi de 20  $UL^{-1}$  para o bagaço de laranja. A baixa atividade provavelmente ocorreu em função do baixo pH. As maiores atividades de xilanase foram dadas em 24h de fermentação para todos resíduos analisados por ARAÚJO (2013). Onde para o coco obteve-se a maior produção com 120  $UL^{-1}$ , seguido pela mistura dos resíduos com 80  $UL^{-1}$  e o de laranja com 40  $UL^{-1}$ . Ressalta ainda que as maiores atividades da pectinase e poligalacturonase foram obtidas em pH igual a 5,5, e para a avicelase e carboximetilcelulase foram obtidas em pH 7.

PUTRI et al (2019) conseguiu resultados satisfatórios para a produção de lipase seca de *Aspergillus niger* utilizando o farelo de arroz como substrato com 1% de azeite como indutor,

produzindo 176 U/ml de enzima e uma atividade de 282 U/ml de enzima utilizando 1% de NaCl-0,5% como extrator.

Com base nos resultados de PUTRI et al. (2019), o farelo de arroz como substrato de fermentação para *Aspergillus niger* produziu unidade de atividade de lipase alta. O farelo de arroz tem tamanho de partícula menor visualmente, o que fornece maior área de superfície para o crescimento do microrganismo; maior teor de carboidratos que fornece fonte de carbono para o crescimento do microrganismo; menor teor de proteína que impede a produção de protease que pode degradar a lipase; maior teor de lipídios que induz o microrganismo a produzir mais lipase com maior atividade; maior teor de água suportando o crescimento do microrganismo, sendo que a fermentação em estado sólido depende altamente do conteúdo de água do substrato e aumenta a eficiência de transferência de oxigênio na torta de fermentação.

#### 4. DISCUSSÃO DOS ARTIGOS CITADOS

---

A FES se mostrou uma boa alternativa para a obtenção de lacase pelo fungo *Pleurotus ostreatus* utilizando a cana-de-açúcar como substrato, com suplementação combinada de extrato de malte, extrato de levedura, sulfato de amônio e sulfato de cobre, onde teve pico de produção enzimática ao sétimo dia de fermentação.

O bagaço de coco é um excelente substrato, pois apresenta alta porcentagem de celulose, conferindo boa resistência e flexibilidade ao material, e hemicelulose que revela sua alta resistência a ataques químicos e enzimáticos. Mas é visto que o crescimento de microrganismos é limitado pelo fato da lignina total ser alta. Por isso é necessário um pré-tratamento para remover parte da lignina da fibra vegetal, para que ocorra maior consumo do substrato e indução as sínteses enzimáticas.

Nos trabalhos que foram citados, notou-se que os resíduos de laranja lima não tiveram sucesso na produção de enzimas, sendo que a casca do coco verde e o bagaço de cana-de-açúcar foram os que apresentaram maior atividade enzimática. O farelo de arroz como substrato de fermentação para *Aspergillus niger* produziu alta atividade de lipase, portanto é uma ótima alternativa para reaproveitamento e transformação do resíduo de arroz como um substrato para a fermentação de enzimas.

A partir dos trabalhos apresentados, foi observado que quando utilizados indutores adequados, a atividade da enzima pode ser satisfatória, mas devem ser estudados para o conjunto substrato, microrganismo e enzima de interesse, pois alguns indutores diminuem a atividade de determinadas enzimas.

## 5. CONCLUSÃO

---

Diante do apresentado fica evidente como há várias formas de se produzir enzimas a partir da reutilização dos resíduos agroindustriais que são muitas vezes descartados no meio ambiente sem nenhuma agregação. Os artigos citados mostraram a possibilidade de obtenção de diversas enzimas, a partir de variados resíduos da agroindústria, podendo ser obtidos por Fermentação Semi-Sólida utilizando de microrganismos dispostos na natureza.

Nota-se a importância de se aproveitar dos resíduos da Agroindústria, pois atualmente é necessário obter meios que minimizem os impactos ao meio ambiente, que estão elevados, em busca da preservação do meio ambiente. Economicamente falando, nota-se importante também a produção de enzimas através dos meios propostos, pois os substratos agroindustriais aqui citados e outros que também não foram, são ótimas fontes para a produção desse material de alto valor comercial, pois oferecem a maioria dos compostos necessários para o crescimento do microrganismo que produzirá a enzima.

Portanto, os resíduos da Agroindústria não devem ser vistos como somente subprodutos que são descartados, mas como fonte de aplicações para a produção de enzimas de alto valor comercial.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUILAR, C. N.; CONTRERAS-ESQUIVEL, J. C.; RODRIGUEZ, R; PRADO, L. A.; & LOERA, O. 2004. Differences in fungal enzyme productivity in submerged and solid state cultures. *Food science and Biotechnology*, 13: 109-113.

ARAÚJO, M. L. **Utilização de Resíduos Agroindustriais para a Produção de Enzimas**. 2013. 98f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Alagoas, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. Maceió, AL, 2003

BARRIOS-GONZÁLES, J. Solid-state fermentation: Physiology of solid médium, its molecular basis and applications. *Process Biochemistry*. v. 47, p. 175-185, 2012

BARROS, G.S.C.; CASTRO, N.R.; MORAIS, A.C.P.; MACHADO, G.C.; ALMEIDA, A.N. **Boletim do mercado de trabalho agronegócio brasileiro**. Centro de estudos avançados em economia aplicada (CEPEA) e fundação de estudos agrários Luiz de Queiroz(FEALQ). Piracicaba, n.2, 2019.

BOBBIO, F.O.; BOBBIO, P. A. **Introdução a Química de Alimentos**. 2ª Ed. São Paulo: Livraria Varela, 231p, 1989.

BONATTI, M.; ARNOPP, P.; SOARES, H.M.; FURLAN, S.A. Evaluation of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor caju* nutritional characteristics when cultivated in different lignocellulosic wastes. *Food Chemistry* v.88, p. 425-428, 2004.

BRAND, D. et al. Biological detoxification of coffee husk by filamentous fungi using a solid state fermentation system. **Enzyme and Microbial Technology**, v.27, p. 127-133, 2000.

BURKERT, J.F. de M. Otimização das Condições de Produção da Lipase por *Geotrichum candidum* NRRL-Y552. Campinas: 2002. Tese de Doutorado. Departamento de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

BURKERT, J. F. M; MAUGERI, F.; RODRIGUES, M. I. Optimization of extracellular lipase production by *Geotrichum* sp. using factorial desing. *Bioresource Technology*, v. 91, p. 77-84, 2004.

Cana de açúcar. **agencia.cnptia.embrapa.br**. Disponível em: [https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/cana-de-acucar/arvore/CONTAG01\\_108\\_22122006154841.html](https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/cana-de-acucar/arvore/CONTAG01_108_22122006154841.html) > Acesso em: 28 nov. 2019.

CARVALHO, P. et al. Aplicação de lipases microbianas na obtenção de concentrados de ácidos graxos poliinsaturados. *Química Nova*, v. 26, n. 1, p. 75–80, 2003.

CASTILHO, L. R. et al. Production and extraction of pectinases obtained by solid state fermentation of agroindustrial residues with *Aspergillus niger*. **Bioresource Technology**, v. 71, n. 1, p. 45-50, 2000.

CASTRO, A. M.; PEREIRA JR, N. Produção, propriedade e aplicação de celulases na hidrólise de resíduos agroindustriais. **Revista Química Nova**, v.33, n.1, p. 181-188, 2010.

CHANDRAKANT, P., BISARIA, V.S. (2000) Simultaneous bioconversion of glucose and xylose to ethanol by *Saccharomyces cerevisiae* in the presence of xylose isomerase. *Appl. Microbiol. Biotechnol*, 53:301-309.

CHEFTEL, J. C.; CHEFTEL H. Introducción a la Bioquímica y Tecnología de los Alimentos. Zaragoza: Ed. Acribia, 333p, 1976.

COUTO, S.R.; SANROMÁN, M. A., Application of solid-state fermentation to food industry – A review. **Journal of Food Engineering**, v. 76, p.291-302, 2006.

DALLA-VECCHIA, R.; NASCIMENTO, M. D. G.; SOLDI, V. Aplicações sintéticas de lipases imobilizadas em polímeros. *Química Nova*, v. 27, n. 4, p. 623–630, 2004.

DEL BIANCHI, V. L.; MORAES, I. O.; CAPALHO, D. M. F. Fermentação em estado sólido. In Schimmedell, W.; Lima, U. A.; Aquarone, E; Borzani; W. **Biotecnologia industrial: engenharia bioquímica**. São Paulo: Edgar Blucheir Ltda, v2, 2001.

EJAZ U., SOHAIL M. **Papel coadjuvante da lignina na imobilização de levedura no bagaço de cana-de-açúcar para produção contínua de pectinase**. *J. Sci. Food Agric.* ( 2020 )

GOPALAN, N., & NAMPOOTHIRI, K. (2016). Biotechnological production of enzymes using agro-industrial wastes: economic considerations, commercialization potential and future prospects. *Agro-industrial wastes as feedstock for enzymes production*. Chapter 14, 313 – 330.

HASAN, S. D. M. Produção, recuperação e caracterização de proteínas alergênicas da biomassa de *Drechslera* (*Helminthosporium*) monóceras obtida por fermentação em estado sólido. Campinas: Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, 2002. Tese (Doutorado).

HASAN, F.; SHAH, A.A.; HAMEED, A. Industrial applications of microbial lipases. *Enzyme and Microbial Technology*, in press, 2006.

HERNÁNDEZ F. I. L.; VALADARES FILHO S. C.; PAULINO M. F.; MANCIO A. B.; CECON P. R.; LANA R. P.; MAGALHÃES K. A.; REIS S. L. R. Avaliação da composição de vários alimentos e determinação da cinética ruminal da proteína utilizando o método de produção de gás e amônia "In vitro". **Rev. Bras. De Zootecnia** v.31, n.1, p. 243-255, 2002.

JAEGER, K. e REETZ, M. T. Microbial lipases from versatile tools for biotechnology. **Trends in Biotechnology**, v. 16, p. 396-403, 1998.

LIU, X., & KOKARE, C. (2017). Microbial enzymes of use in industry. *Biotechnology of microbial enzymes: Production, biocatalysis and industrial applications*, 267 – 298. doi: 10.1016/B978-0-12-803725-6.00011-X

LUBERTOZZI, D.; KEASLING, J. D. Developing *Aspergillus* as a host for heterologous expression. **Biotechnology Advances**, v. 27, n. 1, p. 53-75, 2009.

MACIEL, M.J.M.; CASTRO E SILVA, A.; RIBEIRO. H.C.T. Industrial and biotechnological applications of ligninolytic enzymes of the basidiomycota: a review. *Electronic Journal of Biotechnology*, v.13, n. 6. 2010.

MANDEEL, Q.A.; AL-LAITH, A.A.; MOHAMED, S.A. Cultivation of oyster mushrooms (*Pleurotus* spp.) on various lignocellulosic wastes. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, v.21, p. 601-607, 2005.

MATOS, A. T. Tratamento de resíduos agroindustriais. In: CURSO SOBRE TRATAMENTO DE RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS, 2005, Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa, MG: Fundação Estadual do Meio Ambiente, 2005, p.1-34.

MAYER, A. M.; STAPLES, R. C.; *Phytochemistry* **2002**, *60*, 551.

MITCHELL, D.A., LONSANE, B.K. Definition, characterization and economic evaluation. In: *Solid Substrate Cultivation*, Elsevier, London, 1992.

MOJSOV K. D. **Enzimas *Aspergillus* para indústrias alimentícias**. Novos e futuros desenvolvimentos em biotecnologia microbiana e bioengenharia: *Aspergillus System Properties and Applications*, 2016.

MOREIRA, L.R.; DE S.; FERREIRA, G.V.; SANTOS, S.S.T.; RIBEIRO, A.P.S.; SIQUEIRA, F.G.; FILHO, E.X.F. The hydrolysis of agro-industrial residues by holocellulose- degrading enzymes. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.43, n.2, p.498-505, 2012.

PALLU, A. P. S. Potencial biotecnológico de fungos do gênero e interação com cana-de-açúcar. 2010, p. 129. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade de São Paulo. Piracicaba, 2010.

PALMA, M. B., Produção de Xilanases em *Thermoascus aurantiacus* Cultivo em Meio Sólido. 2003. Tese (Doutorado), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC.

PANDA, S.K.; MISHRA, S.S; KAYITESI, E.; RAY, R.C. Microbial-processing of fruit and vegetable wastes for production of vital enzymes and organic acids: Biotechnology and scopes. **Environmental research**, v.146, p.161-172, 2016.

PANDEY, A., RADHAKRISHNAN, S. Packed-bed column bioreactor for production of enzyme. **Enzyme and Microbiology Technology**, v. 14, p. 486-488, 1992.

PANDEY, A. Solid-state fermentation. **Biochemical Engineering Journal**, v.13, n.2-3, p.81-84, 2003.

PANDEY, A. Solid-state fermentation. **Biochemical Engineering Journal**, v.13, n.8, p.81-84, 2003.

PANDEY, A. et al. New developments in solid state fermentation: I – Bioprocesses and products. **Process Biochemistry**, v.35, p. 1153-1169, 2000.

PANDEY, A. Solid state fermentation. **Biochemical. Engineering Journal**, v.3636, p.1-4, 2002.

PANESAR, P.S., KAUR, R., SINGLA, G., SANGWAN, R.S. Bio-processing of agro-industrial wastes for production of food-grade enzymes: progress and prospects. **Appl Food Biotechnol**, v. 3, n. 4, p. 208-227, 2016.

PELIZER, L. H. et al. Utilização de resíduos agro-industriais em processos biotecnológicos como perspectiva de redução do impacto ambiental. **Journal of Technology Management & Innovation**, v.2,p. 118-127, 2007.

PINHEIRO, T. L. F. **Produção de lipases por fermentação em estado sólido e fermentação submersa utilizando *Penicillium verrucosum* como microrganismo.** 2006. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – Programa de Mestrado em Engenharia de Alimentos da URI-Campus de Erechim. Erechim, RS, 2006.

PINTO, G. A. S. **Produção de tanase por *Aspergillus niger*.** 2003. 213 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Rio de Janeiro, RJ, 2003.

PINTO, G. A. S.; BRITO, E. S.; ANDRADE, A. M. R.; FRAGA, S. L. P.; TEIXEIRA, R. B. Fermentação em estado sólido: uma alternativa para o aproveitamento e valorização de resíduos agroindustriais tropicais. Fortaleza, CE: Embrapa Agroindústria Tropical (Comunicado técnico, 102), 5 p., 2005.

PUTRI, D. N., KHOOTAMA A., PERDANI M S., UTAMI T S., HERMANSYAH H. Optimization of *Aspergillus niger* lipase production by solid state fermentation of agro-industrial waste. *Energy Reports* 6 (2020) 331-335.

PUTZKE, J.; PUTZKE, M. T. L. Os reinos dos fungos. 2 ed., v.1. Santa Cruz do Sul: EDUNISC, p.605, 2004.

RAFATULLAH, M.; SULAIMAN, O.; HASHIM, R.; AHMAD, A. Adsorption of methylene blue on low, cost adsorbents: a review. *Journal of hazardous materials*, v.177, n.1, p.70-80, 2010.

RAMOS, A. C.; SAPATA, M.M.; CANDEIAS, M.; FIGUEIREDO, E.; GOMES, M.L. Cultura de Cogumelos do Gênero *Pleurotus*. Portugal: INIAP, 2003.p. 605-611.

RODRÍGUEZ COUTO, S. & SANROMÁN, M. A. 2006.Application of solid-state fermentation to food industry – A review.*Journal of Food Engineering*, 76: 291-302.

ROSA, C.A.R.; CAMPOS, S.G.; BARONI, F.A. Práticas de micologia veterinária. UFRRJ. Instituto de Veterinária. Departamento de Micologia e Imunologia Veterinária. Micologia Veterinária. Prática 8. Seropédica, 2002.

SANTOS, D. T. et al. **Potencialidades e Aplicações da Fermentação Semi-Sólida em Biotecnologia.** Janus: Lorena, ano 3, n. 4, 2006.

SÁNCHEZ, C. Lignocellulosic residues: Biodegradation and bioconversion by fungi. **Biotechnology Advances**, v. 27, n. 2, p. 185-194, 2009.

SCHMIDELL, W.; LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. *Biotecnologia industrial – vol. 2*. São Paulo. Edgard Blücher LTDA, 2001.

SCHUSTER, E.; DUNN-COLEMAN, N.; FRISVAD, J. C.; van DIJCK, P. W. M. On the safety of *Aspergillus niger* – a review. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 59, p. 426-435. 2002

SHARMA, A.; TEWARI, R.; RANA, S.S.; SONI, R.; SONI, S.K. *Cellulases: Classification, Methods of Determination and Industrial Applications*. App Biochem Biotechnol, 2016.

SHEN, Z.; MANNING, G.; REESE, J. C.; REECK, G. R.; *Insect Biochem. Mol. Biol.* 1999

SILVA, L., LIMA, R., RUZENE, D., SILVA, D da. (2019). Resíduos agroindustriais como biomassa alternativa para geração de energia distribuída em comunidades rurais. *Energias alternativas: tecnologias sustentáveis para o nordeste brasileiro*. Aracaju: associação acadêmica de propriedade intelectual, 189 – 211. Retrieved from: <https://ri.ufs.br/jspui/handle/riufs/12607>

SINGHANIA, R.R.; PATEL, A. K.; SOCCOL, C.R.; PANDEY, A. Recent advances in solidstate fermentation. *Biochemical Engineering Journal*, v. 44, p. 13-18, 2009.

SOCCOL, C. R. et al. **Breeding and growth of *Rhizopus* in raw cassava by solid state fermentation**. *Applied Microbiology Biotechnology*, v.41, p. 330-336, 1994.

SOUZA , P. M.; MAGALHÃES, P. O. Application of microbial amylase in industry – a review. **Brazilian journal of microbiology**, São Paulo, v.41, n.4, p. 850-861, 2010.

SPIER, M. R. **Produção de enzimas amilolíticas fúngicas  $\alpha$ -amilase e amiloglicosidase por fermentação no estado sólido**. 2005. 178f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, Curitiba, PR, 2005.

TAMANINI, C.; HAULY, M.C. DE O. Resíduos agroindustriais para produção biotecnológica de xilitol. **Semina: Ciências Agrárias**, v.25, n.4, p.315-330, 2004.

TURQUOIS, T.; RINAUDO, M.; TARAVEL, F. R.; HEYRAUD, A. Extraction of highly gelling pectic substances from sugar beet pulp and potato pulp: influence of extrinsic parameters on their gelling properties. **Food Hydrocolloids**, v.13, p. 255-262, 1999.

VIEIRA, et al. Caracterização química do resíduo do processamento agroindustrial da manga (*Mangifera indica* L.) var. Ubá. *Alimentos e Nutrição*, v.2, n.4, p.617-623, 2009.

VIGNESWARAN, C., ANANTHASUBRAMANIAN, M., KANDHAVADIVU, P. (2014). Industrial enzymes. Bioprocessing of textiles. Fundamentals for applications and research perspective, chapter 2, p 23 – 52.

VINIEGRA-GONZALEZ, G. Solid state fermentation: definition, characteristics, limitation and monitoring, p. 5-22. In: ROUSSOUS, S. et al. (Eds.) **Advances in solid-state fermentation**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1997.

YAZID, N. A.; BARRENA, R.; KOMILIS, D.; SÁNCHEZ, A. Solid-State Fermentation as a Novel Paradigm for Organic Waste Valorization: A Review.

YOKOYAMA, K. Identification, classification and phylogeny of the *Aspergillus* section *Nigri* inferred from mitochondrial cytochrome b gene. **FEMS Microbiology Letters**, v. 200, p. 241-246, 2001.