



## ESTRATÉGIAS DE VALORIZAÇÃO DE RESÍDUOS LIGNOCELULÓSICOS POR BIOPROSPECÇÃO DE ENZIMAS

**Jaqueline Barroso de Souza** – jaquelinebarrosodesouza@gmail.com

**Jorge Alberto López Rodrigues**– jorgejal@gmail.com

Universidade Tiradentes - UNIT / Prog. de Pós-graduação em Biotecnologia Industrial, Av. Murilo Dantas, 300,  
Prédio do ITP, Bairro Farôlandia, CEP: 49032-490 Aracaju – SE

**Michele Michelin** – mimichelin.bio@gmail.com

**Maria de Lourdes T. M. Polizeli** – polizeli@ffclrp.usp.br

Universidade de São Paulo - USP / Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, CEP: 14040-901  
Ribeirão Preto – SP

**Daniel Pereira Silva** – silvadp@hotmail.com

**Denise Santos Ruzene** – ruzeneds@hotmail.com

Universidade Federal de Sergipe - UFS / Centro de Ciências Exatas e Tecnologi, Av. Marechal Rondon, s/n -  
Jardim Rosa Elze, CEP: 49100-000 São Cristóvão – SE

**Marcelo da Costa Mendonça** – marcelom@cpatc.embrapa.br

Embrapa Tabuleiros Costeiros - EMBRAPA, Av. Beira Mar, 3250 – Jardins, CEP: 49025-040 Caixa Postal 44  
Aracaju – SE

**Resumo:** *O uso industrial de enzimas, proteínas com capacidade de catalisar reações, expandiu-se rapidamente durante os últimos anos, constituindo-se hoje em um dos grandes mercados a serem explorados. Diversas são as aplicações e potencialidades comerciais das enzimas. Por este motivo, estudos para o desenvolvimento de processos fermentativos e de purificação que sejam eficientes e apropriados à ampliação de escala, visando a obtenção de enzimas, estão se tornando cada vez mais promissores e necessários. Neste contexto, o objetivo deste trabalho é apresentar conceitos básicos e discussão referente a aplicação e valorização de resíduos agrícolas/agro-industriais, materiais lignocelulósicos, no uso e obtenção de bioprodutos como a obtenção de enzimas.*

**Palavras-chave:** *enzimas, bioprocessos, bioprospecção, resíduos lignocelulósicos*



## 1. INTRODUÇÃO

Historicamente, a demanda por bioprocessos enzimáticos tem-se concentrado em mercados mais desenvolvidos e processos mais complexos, isso devido ao elevado valor agregado das enzimas. Por este motivo, uma busca constante por alternativas mais viáveis para sua obtenção e aplicação tem sido alvo de muitos pesquisadores. Dentro deste contexto, é do conhecimento que a quantidade de resíduos gerados por atividades agrícolas ou agro-industriais vêm aumentando a cada ano pela necessidade e desafio de maiores produções de alimentos bem como pela iniciativa de um desenvolvimento sustentável. Assim, a demanda por novos processos envolvendo a aplicação de resíduos agrícolas/agro-industriais tem resultado em promissoras estratégias de valorização destes materiais lignocelulósicos. De encontro a esta temática, vem à perspectiva de valorização de resíduos lignocelulósicos por intermédio da bioprospecção de enzimas, uma vez que o uso desses agro-resíduos, in natura ou por suas frações obtidas após etapas de tratamentos físico-químicos, como agentes de bioprospecção de enzimas seria uma alternativa promissora ao melhoramento de bioprocessos, em especial ao desenvolvimento de uma via eficiente para a expressão e produção de enzimas.

## 2. ENZIMAS: DEFINIÇÃO, MERCADO E APLICAÇÃO

### 2.1 Características gerais das enzimas

As enzimas são proteínas responsáveis por catalisar reações químicas (ORLANDELLI *et al.*, 2012), acelerando a velocidade de uma reação e também catalisando a maioria das reações dos organismos vivos (MONTEIRO & SILVA, 2009). Além disso, estes agentes quando ativos são cruciais para o sistema metabólico de todos os seres vivos (ORLANDELLI *et al.*, 2012) e por isso de extrema importância para o desenvolvimento de microrganismos aplicados em bioprocessos (WANDERLEY, NEVES & ANDRADE, 2011).

O reconhecimento e aplicação das enzimas ocorre desde a antiguidade, quando as enzimas eram já utilizadas para a fabricação de pães, queijo, bebidas alcóolicas e outros produtos; com o passar do tempo houve um melhor conhecimento e purificação das enzimas, multiplicando-se suas aplicações (HAKI & RAKSHIT, 2003). Atualmente as enzimas são consideradas produtos de alto valor agregado e amplamente utilizadas por diversos tipos de



indústria, tais como a indústria farmacêutica, saponácea (WANDERLEY, NEVES & ANDRADE, 2011), alimentícia, têxtil, de papel e celulose, cosmética, láctea, entre outras (MONTEIRO & SILVA, 2009; ORLANDELLI *et al.*, 2012; SONG *et al.*, 2014). Além desses exemplos, há ainda o fato das enzimas também poder ser usadas para amenizar a poluição causada por muitos processos industriais (SONG *et al.*, 2014).

Entretanto, as enzimas podem ser obtidas por diferentes fontes, sendo a fonte microbiana a mais utilizada em processos biotecnológicos devido às suas vantagens, dentre elas: a produção de enzimas independente de fatores sazonais, a possibilidade de utilização de substratos baratos para sua obtenção (MONTEIRO & SILVA, 2009), alta especificidade, facilidade de purificação (quando são extracelulares) e produção concomitante (WANDERLEY, NEVES & ANDRADE, 2011). Os processos industriais que utilizam enzimas lançam menos produtos residuais, favorecem a obtenção de produtos de melhor qualidade e minimizam a produção de poluentes (WANDERLEY, NEVES & ANDRADE, 2011), processos geralmente simples, facilmente controláveis, eficientes energeticamente e de baixo custo (ORLANDELLI *et al.*, 2012).

Assim, as enzimas têm despertado grande interesse econômico tanto pela sua facilidade de obtenção (por processos biotecnológicos) quanto pelas vantagens que possuem em relação aos catalisadores químicos (MUSSATTO, FERNADES & MILAGRES, 2007), substituindo substâncias químicas sintéticas e contribuindo em diferentes processos de produção ou de geração de benefícios para o meio ambiente (BAJPAI, 1997; WANDERLEY, NEVES & ANDRADE, 2011).

## 2.2 Enzimas no mercado mundial

As aplicações enzimáticas no mercado industrial mundial estão vinculadas à área da Biotecnologia, ao mesmo tempo que em processos relacionados a área de engenharias em geral. Tais aplicações visam utilizar novas matérias-primas e melhorar as características físico-químicas dos processos para a obtenção de produtos de interesse, neste sentido, a produção de enzimas é uma área que está crescendo e movimentando bilhões de dólares anualmente (ORLANDELLI *et al.*, 2012). Segundo Song *et al.* (2014) o avanço da Biotecnologia possibilitou o aumento da substituição de processos químicos tradicionais por processos biotecnológicos, causando avaliação de diferentes tipos de enzimas em diferentes procedimentos industriais, como por exemplo, as xilanases e ligninases na indústria de papel e celulose, as celulases no refino de fibras e descoloração, as pectinases na indústria de couro e



alimentícia, proteases na indústria de detergentes e as lipases nas indústrias alimentícias, de laticínios e farmacêuticas.

O mercado mundial de enzimas, obteve um aumento de 4% na taxa média anual de comercialização de enzimas industriais em 2012, o equivalente a \$ 2,70 bilhões de dólares prevendo um acréscimo de 9,1% na sua taxa média anual (Compound Annual Growth Rate - CAGR) até 2016, significando um aumento de 6 bilhões de dólares. Dentro deste contexto, enzimas relacionadas as indústrias de alimentos e bebidas possuem a maior participação no mercado com previsão de aumento de 10,4% em sua taxa média anual até 2016, equivalendo a \$ 2,1 bilhões de dólares. As enzimas técnicas (designadas para indústrias de tecidos e de produtos de limpeza (MUSSATTO, FERNADES & MILAGRES, 2007) apresentaram um rendimento em cerca de 1,10 bilhão de dólares no mercado mundial em 2010 e quase alcançaram \$ 1,2 bilhão em 2011. Atualmente o mercado de enzimas técnicas está projetado para elevar a sua taxa anual em 8,2% e obter \$ 1,70 bilhão até 2016 (COMYNS, 2012a).

Nos EUA a demanda de enzimas está prevista para chegar a US \$ 2,8 bilhões em 2014, aumentando 4,8% ao ano. Enquanto que a demanda mundial de enzimas prevê uma média de crescimento de 6,3% ao ano até 2015. As enzimas mais vendidas neste mercado estão relacionadas à indústria alimentícia (alimentação animal, produtos alimentícios e bebidas) (COMYNS, 2012b).

### **2. 3. Bioconversão dos resíduos lignocelulósicos pelas enzimas**

Biomassa lignocelulósica, ou material lignocelulósico, é o nome designado à biomassa vegetal (DAORATTANACHAI *et al.*, 2013), ela é considerada a maior fonte renovável do planeta e a mais abundante na natureza, ela tem atraído atenção principalmente para a fabricação de biocombustíveis devido aos seus benefícios como a disponibilidade em larga escala, baixo custo de obtenção (LEE, TRINH & LEE, 2014) não competindo com recursos relativos a alimentação (COULIER *et al.*, 2013). Deste modo, e por ela ser uma das mais promissoras fontes de energia renovável, diversos estudos têm sido realizados visando a obtenção de novas estratégias para converter essa biomassa em combustíveis líquidos e em produtos químicos de alto valor agregado (BRAND *et al.*, 2013).

De acordo com Sermanni & Porri (1989) a utilização de material lignocelulósico para a obtenção de compostos de alto valor econômico, por biotransformação, é um dos mais interessantes campos da pesquisa biotecnológica. A biomassa lignocelulósica possui uma estrutura complexa (SUN *et al.*, 2014), constituída principalmente de celulose, hemicelulose e



lignina (COULIER *et al.*, 2013; DAORATTANACHAI *et al.*, 2013; LEE, TRINH & LEE, 2014; SUN *et al.*, 2014, TAKAHASHI *et al.*, 2014 ), sendo a celulose seu maior composto. Portanto, a celulose e a hemicelulose estão presentes nos subprodutos gerados pela agroindústria, tais como: bagaço da cana-de-açúcar, casca de arroz, palha de milho, serragem, talo de girassol, entre outros.

Os resíduos agroindustriais são, em sua maioria, de natureza lignocelulósica (KEREM *et al.*, 1992) e segundo Nor *et al.* (2013) a conversão desses resíduos em produtos de valor agregado poderia minimizar problemas ambientais, como acúmulo de resíduos agrícolas, poluição do ar e da água. As maiores colheitas de cereais são relativas à arroz, trigo e milho, nos quais as folhas, caule, e casca, são partes não aproveitáveis que geralmente são descartados, e pela sua quantidade, contribuem em muitos casos para a poluição ambiental quando não reutilizados. Dentre os principais cereais, estão a casca de arroz, que produz o maior percentual de cinzas (23%), em seguida o bagaço da cana de açúcar com 15%, a palha do arroz com 14%, a palha do milho com 12%, as folhas e o talo do girassol com 11% e as folhas do trigo com 10% de cinzas (DELLA, KÜHN & HOTZA, 2005).

Para que a biomassa lignocelulósica seja utilizada em etapas de bioconversão, como por exemplo liberando açúcares fermentescíveis desejados a obtenção de bioetanol (COULIER *et al.*, 2013) é necessário que haja um pré-tratamento, quebrando a ligação entre os três compostos (celulose, hemicelulose e lignina) e expondo a celulose a etapas de hidrólise, isso por uma mistura de enzimas fúngicas ou ácido sulfúrico.

Além disso, já é bem conhecido que o custo da matéria-prima por unidade de produto pode ser reduzido quando todos os componentes da biomassa (ou do resíduo) são convertidos a produtos de maior valor agregado (MOSIER *et al.*, 2005). Devido à estrutura rígida da biomassa lignocelulósica e aos compostos inibidores produzidos durante o processo de pré-tratamento, a eficácia da hidrólise no pré-tratamento é insatisfatória, limitando o aumento de rendimento do bioetanol, neste sentido, é necessário aumentar a eficiência de hidrólise da biomassa pré-tratada (COULIER *et al.*, 2013).

Segundo Coulier *et al.* (2013) nos últimos anos, diversos investimentos têm sido aplicados em pesquisas que buscam melhorar a eficácia da hidrólise de biomassa lignocelulósica através de enzimas fúngicas, as principais formas de se conseguir essa melhora é através da Engenharia Genética de linhagens produtoras de celulasas conhecidas e a procura de novos produtores de enzimas lignocelulolíticas.



Os tipos de pré-tratamento dependem do material utilizado e da finalidade proposta de utilização das frações lignocelulósicas, podendo ser mecânicos, físicos, biológicos e químicos, ou ainda uma combinação de alguns desses processos. No entanto, o pré-tratamento usado deve ser eficiente do ponto de vista energético e químico e vários critérios devem ser considerados, como evitar a redução do tamanho das partículas de biomassa, preservar a fração de hemiceluloses, evitar a degradação ou a perda de carboidratos, bem como a formação de compostos inibidores ao crescimento dos microrganismos da fermentação e minimizar o custo (MOSIER *et al.*, 2005). A geração de subprodutos, como as frações de hemiceluloses e lignina, de alto valor agregado, também pode ser um parâmetro de comparação entre os diversos tipos de pré-tratamentos.

Assim, para a produção de etanol, ou a síntese de qualquer produto de origem microbiana a partir de resíduos celulósicos, inicia-se pela deslignificação do material lignocelulósico, ocasionando assim a separação da celulose, hemicelulose e lignina. Para a realização desta separação, já foram descritos diferentes tipos de processos, dentre os quais podem ser destacados o uso de ácidos (FOGEL *et al.*, 2005) ou o emprego de vapor (MONIRUZZAMAN, 1996). Em seguida, deve ocorrer a despolimerização da celulose e da hemicelulose para a liberação de açúcares, os quais serão utilizados pelo microrganismo para a síntese do produto de interesse. Entre os principais produtos que podem ser gerados por este procedimento, destacam-se o etanol (MIELENZ 2001), açúcares (FOGEL *et al.*, 2005), bioplástico (SILVA *et al.*, 2004), ácidos orgânicos (TANAKA *et al.*, 2006), Single Cell Protein (SCP), enzimas, etc (LIMA & RODRIGUES, 2007).

Resíduos agroindustriais como fonte de indução para a produção de enzimas por microrganismos, tem sido hoje alvo de diversos trabalhos, como Chapla *et al.* (2010) que utilizaram diferentes tipos de resíduos, tais como, farelo de trigo, farelo de arroz, bagaço de cana, sabugo de milho, palha de trigo e palha de arroz; Joshi e Khare (2011) que utilizaram torta (bagaço de semente) de *Jatropha curcas* (comumente chamada de pinhão-mansão); Kapilan e Arasaratnam (2011) que utilizaram casca de arroz; Pawar *et al.* (2014), Nagar *et al.* (2011) e Michelin *et al.* (2011) que utilizaram resíduos de farelo de trigo; Michelin *et al.* (2012) que utilizaram sabugo de milho; Michelin *et al.* (2012) que utilizaram palha de trigo, Gool *et al.* (2012) que utilizaram palha de trigo e fibra de milho e Moreira *et al.* (2013) que utilizaram bagaço de cana de açúcar. Essas pesquisas comprovam a eficácia desta estratégia (utilização de resíduos lignocelulósicos) para obter as enzimas de interesse um baixo custo de produção.



### 3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com os pontos abordados é possível afirmar que a utilização de resíduos agroindustriais ou agrícolas para a bioprospecção de enzimas é uma estratégia viável para se obter produtos de alto valor agregado a um baixo custo. Essa estratégia pode ser considerada uma alternativa ao destino dado aos resíduos lignocelulósicos, propiciando benefícios interessantes, que possam ser atingidos tanto do ponto de vista ambiental quanto econômico.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAJPAI, P. Microbial Xylanolytic System: Properties and Applications. *Advances in Applied Microbiology*, v.43, p. 141-194, 1997.
- BRAND, S.B.; SUSANTI, R.F.; KIM, S.K.; LEE, H.S.; Kim, J.; SANG, B.I. Supercritical ethanol as an enhanced medium for lignocellulosic biomass liquefaction: Influence of physical process parameters. *Energy*, v.59, p. 173-182, 2013.
- CHAPLA, D.; DIVECHA, J.; MADAMWAR, D.; SHAH, A. Utilization of agro-industrial waste for xylanase production by *Aspergillus foetidus* MTCC 4898 under solid state fermentation and its application in saccharification. *Biochemical Engineering Journal*, v.49, p. 361–369, 2010.
- COULIER, L.; ZHA, Y.; BAS, R.; PUNT, P. J. Analysis of oligosaccharides in lignocellulosic biomass hydrolysates by high-performance anion-exchange chromatography coupled with mass spectrometry (HPAEC–MS). *Bioresource Technology* v. 133, p. 221–231, 2013.
- COMYNS, A.E. Industrial enzymes: technology trends and opportunities. *Focus on Catalysts Journal*, November, 2012a.
- COMYNS, A.E. Enzymes: a market survey. *Focus on Catalysts Journal*, November, 2012b.
- DAORATTANACHAI, P.; VIRIYA-EMPIKUL, N.; LAOSIRIPOJANA, N.; FAUNGNAWAKIJ, K. Effects of Kraft lignin on hydrolysis/dehydration of sugars, cellulosic and lignocellulosic biomass under hot compressed water. *Bioresource Technology* v. 144, p. 504–512, 2013.
- DELLA, V.P.; KÜHN, I.; HOTZA, D. Reciclagem de Resíduos Agro-Industriais: Cinza de Casca de Arroz como Fonte Alternativa de Sílica. *Cerâmica Industrial*, v.10, n.2, p. 22-25, 2005.
- FOGEL R., et al. Optimization of acid hydrolysis of sugarcane bagasse and investigations on



- its fermentability for the production of xylitol by *Candida guilliermondii*. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, v. 122, p. 741-752, 2005.
- GOOL, M.P.V.; TOTH, K.; SCHOLS, H.A.; SZAKACS, G.; GRUPPEN, H. Performance of hemicellulolytic enzymes in culture supernatants from a wide range of fungi on insoluble wheat straw and corn fiber fractions. *Bioresource Technology* v.114, p. 523-528, 2012.
- HAKI, G.D.; RAKSHIT, S.K. Developments in industrially important thermostable enzymes: a review. *Bioresource Technology*, v. 89, p. 17-34, 2003.
- JOSHI, C.; KHARE, S.K. Utilization of deoiled *Jatropha curcas* seed cake for production of xylanase from thermophilic *Scytalidium thermophilum*. *Bioresource Technology*, v. 102, p. 1722-1726, 2011.
- KEREM Z.; et al. Lignocelulose Degradation During Solid-State Fermentation: *Pleurotus ostreatus* versus *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl. Environ. Microbiol.*, v.58, n.4, p.1121-1127, 1992.
- LEE, J.W.; TRINH, L.T.P.; LEE, H.J. Removal of inhibitors from a hydrolysate of lignocellulosic biomass using electro dialysis. *Separation and Purification Technology*, v. 122, p. 242-247, 2014.
- LIMA, A.O.S.; RODRIGUES, A.L. Sacarificação de resíduos celulósicos com bactérias recombinantes como estratégia para redução do efeito estufa. *Revista de Ciências Ambientais*, v.1, n.2, p.5-18, 2007.
- MICHELIN, M.; POLIZELI, M. T. M.; SILVA, D. P.; RUZENE, D. S.; VICENTE, A. A.; JORGE, J. A.; TERENCEZI, H. F.; TEIXEIRA J. A. Production of xylanolytic enzymes by *Aspergillus terricola* in stirred tank and airlift tower loop bioreactors. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, v. 38,1 p. 979-1984, 2011.
- MICHELIN, M.; POLIZELI, M. T. M.; RUZENE, D. S.; SILVA, D. P.; RUIZ, H. A.; VICENTE, A. A.; JORGE, J. A.; TERENCEZI, H. F.; TEIXEIRA J. A. Production of xylanase and  $\beta$ -xylosidase from autohydrolysis liquor of corncob using two fungal strains. *Bioprocess Biosyst. Eng.* v. 35, p.1185-1192, 2012.
- MIELLENZ, JR. Ethanol production from biomass: technology and commercialization status. *Curr. Opin. Microbiol.*, v.4, n.3, p. 324-329, 2001.
- MONIRUZZAMAN, M. Saccharification and alcohol fermentation of steam-exploded rice straw. *Bioresour. Technol.*, v. 55, n.2, p.111-117, 1996.
- MONTEIRO, V.N; SILVA, R.N. Aplicações Industriais da Biotecnologia Enzimática. *Revista Processos Químicos*, v.3, p. 9-23, 2009.





- MOREIRA, L. R. S.; CAMPOS, M. C.; SIQUEIRA, P.H.V.M.; SILVA, L. P.; RICART, C. A. O; MARTINS, P. A.; QUEIROZ, R.M.L.; FERREIRA FILHO, E. X. Two  $\beta$ -xylanases from *Aspergillus terreus*: Characterization and influence of phenolic compounds on xylanase activity. *Fungal Genetics and Biology*, v. 60, p. 46–52, 2013.
- MOSIER, N., et al. Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresour. Technol.*, 96:673-686, 2005.
- MUSSATTO, S.I.; FERNANDES, M.; MILAGRES, A.M.F. Enzimas: poderosa ferramenta na indústria. *Revista Ciência Hoje*, v.41, n. 242, p. 28-33, 2007. Disponível em <<http://cienciahoje.uol.com.br/banco-de-imagens/lg/protected/ch/242/enzimas242.pdf/view>>. Acesso em: 19 dez. 2013.
- NAGAR, S.; MITTAL, A.; KUMAR, D.; KUMAR, L.; KUHAD, R.C.; GUPTA, V.K. Hyper production of alkali stable xylanase in lesser duration by *Bacillus pumilus* SV-85S using wheat bran under solid state fermentation. *New Biotechnology*, v.00, n.00, p. 1-7, 2011.
- ORLANDELLI, R.C.; SPECIAN, V.; FELBER, A.C.; PAMPHILE, J.A. Enzimas de interesse industrial; produção por fungos e aplicações. *Rev. Saúde e Biol.*, v.7, n.3, p. 97-109, 2012.
- SERMANNI, G.G; PORRI, A. The potentiality of solid state biotransformation of lignocellulosic materials. *Chimica Oggi*, p. 15 – 19, 1989.
- SILVA, L.F.; et al. Poly-3-hydroxybutyrate (P3HB) production by bacteria from xylose, glucose and sugarcane bagasse hydrolysate. *J.Ind. Microbiol. Biotechnol.*, v.3, n.6, p. 245-254, 2004.
- SONG, H. Y.; LIM, H. K.; KIM, D. R.; LEE, K. I.; HWANG, I. T. A new bimodular endo- $\beta$ -1,4-xylanase KRICT PX-3 from whole genome sequence of *Paenibacillus terrae* HPL-003. *Enzyme and Microbial Technology*, v.54, p. 1-7, 2014.
- SUN, S.N.; CAO, X.F.; XU, F.; SUN, R.C.; JONES, G.L.; BAIRD, M. Structure and thermal property of alkaline hemicelluloses from steam exploded *Phyllostachys pubescens*. *Carbohydrate Polymers*, v.101, p. 1191– 1197, 2014.
- TANAKA, T.; et al. Production of d-lactic acid from defatted rice bran by simultaneous saccharification and fermentation. *Bioresour. Technol.*, v.97, n. 2, p. 211-217, 2006.
- TAKAHASHI, T.; SATO, Y.; ITO, K.; MORI, H. Effect of agitation speed on enzymatic saccharification of dry-pulverized lignocellulosic biomass. *Renewable Energy*, v.62, p. 754-760, 2014.

ISBN 978-85-7822-431-8



9 788578 224318



WANDERLEY, M. D.; NEVES, N.; ANDRADE, C. J. Aspectos da produção industrial de enzimas. Revista CINTINO, v.1, n.1, p. 44-50, 2011.