

AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE CELULASES UTILIZANDO SUBSTRATOS ALTERNATIVOS

André Eduardo Borges Lawinsky¹, Alexia Santos da Silva², Baraquizio Braga do Nascimento Junior³

RESUMO

Cereus jamacaru, popularmente conhecido como Mandacaru, é uma planta encontrada na região do semiárido baiano, que apresenta uma rica composição centesimal, porém é utilizada em grande parte apenas para alimentação de bovinos, demandando assim, mais estudos para valorização desta planta. As enzimas são biocatalisadores fundamentais em processos metabólicos e industriais, reduzindo a energia de ativação das reações. Dentre elas, a celulase possui destaque por degradar a celulose em açúcares simples, sendo aplicada nas indústrias de alimentos, papel, farmacêutica e detergentes. Dessa forma, neste trabalho foi desenvolvida uma pesquisa de quantificação de celulase presente no pó do Mandacaru, através da fermentação sólida, utilizando fungos filamentosos, com o objetivo de estudar a produção dessa enzima. As variáveis utilizadas no processo fermentativo para analisar a produção de celulases foram umidade do meio, tempo de fermentação e duas cepas de fungos filamentosos, *Pleurotus Ostreatus* e *Ganoderma lucidum*. Os resultados encontrados demonstraram o potencial do Mandacaru como um substrato nutricional alternativo para que os fungos filamentosos possam produzir a enzima celulase, e dessa forma, agregar valor para uma planta que é subutilizada na região do semiárido baiano.

PALAVRAS-CHAVE: Fermentação em Estado Sólido, fungos, *Pleurotus Ostreatus*, *Ganoderma lucidum*

EVALUATION OF CELLULASE PRODUCTION USING ALTERNATIVE SUBSTRATES

ABSTRACT

Cereus jamacaru, popularly known as Mandacaru, is a plant found in the semiarid region of Bahia. It has a rich centesimal composition, but is largely used only for cattle feed. Therefore, further studies are needed to further evaluate this plant. Enzymes are fundamental biocatalysts in metabolic and industrial processes, reducing the activation energy of reactions. Among them, cellulase stands out for degrading cellulose into simple sugars, being used in the food, paper, pharmaceutical, and detergent industries. Therefore, this study developed a study to quantify the cellulase present in Mandacaru powder through solid-state fermentation using filamentous fungi, with the aim of studying the production of this enzyme. The variables used in the fermentation process to analyze cellulase production were medium humidity, fermentation time, and two strains of filamentous fungi: *Pleurotus ostreatus* and *Ganoderma lucidum*. The results found demonstrated the potential of Mandacaru as an alternative nutritional substrate for filamentous fungi to produce the cellulase enzyme, and thus, add value to a plant that is underutilized in the semi-arid region of Bahia.

KEYWORDS: Solid state fermentation, fungi, *Pleurotus Ostreatus*, *Ganoderma lucidum*

INTRODUÇÃO

Neste trabalho, o principal questionamento está relacionado nas condições ideais para que seja possível a produção de enzimas através de substrato alternativo para aplicação em detergentes e em indústrias de celulose.

Um fator importante para inovação e até como justificativa desse trabalho é a utilização da *Cereus jamacaru*, popularmente conhecida como mandacaru, essa planta tão comum e abundante no semiárido do Brasil, que pode apresenta potencial de substrato alternativo para que seja possível diminuir o valor gasto com produtos aditivos para produção da enzima celulase , além do pensamento de diminuir uma cadeia de produção industrial contribuindo para diminuição de produtos que sejam nocivos ao meio ambiente.

Enzimas podem ser caracterizadas como biocatalisadores que são extraídos a partir de células e conseguem aumentar a velocidade da reação (DENTI et al. 2022), através da diminuição da energia de ativação, acarretando num menor gasto de energia. Segundo DENTI (2021) as enzimas têm diversas funções como oxirredutases, hidrolases, transferases, ligases, isomerases. Todas essas funções sendo específicas de cada enzima e apresentando vital importância para todos os seres vivos.

Segundo JOSE (2020), a produção de enzimas a partir de microrganismos, possui extensa aplicação na indústria alimentícia buscando a melhoria do processo de produção, e outros componentes relacionados como sabor, aroma, cor, textura, aparência, vida de prateleira, valor nutritivo etc.

Enzimas capazes de degradar biomassa lignocelulósica, são principalmente feitas, por enzimas secretadas de microrganismo, leveduras ou até fungos filamentosos, que se destacam por produzir vários tipos de enzimas com características diversas, que se complementam. (FLORENCIO, 2017).

Segundo FLORENCIO 2017, as enzimas que quebram a celulose funcionam juntas como um polímero natural. Essa ação conjunta envolve três tipos maiores de enzimas: Endoglucanases (EGases): Atuam de maneira aleatória nas partes amorfas da celulose, quebrando as ligações β -1,4 glicosídicas em pontos dentro da cadeia. Essa ação faz novas extremidades, tanto redutoras quanto não redutoras, na molécula. Celobiohidrolases (CBH): São enzimas que atuam de maneira progressiva e preferencialmente nas partes externas das cadeias de celulose, sejam elas redutoras ou não, "desfiando" a cadeia polimérica, liberando principalmente celobiose, um dissacarídeo, a partir dos fragmentos gerados pelas endoglucanases. β -glicosidases: Essas, completam o trabalho ao quebrar a celobiose, entre outros celos-oligossacarídeos pequenos convertendo-os em partes de uma só molécula glicose que

é o produto da degradação. Assim, a quebra eficaz da celulose precisa do trabalho organizado dessas três enzimas.

Segundo SUBISSAY et al (2022), as enzimas celulasas, que formam o conjunto celulolítico, são encarregadas pela quebra da celulose – principal componente do tecido vegetal. Essas enzimas são utilizadas em vários ramos da indústria, como na produção de detergentes em empresas têxtil, de papel e celulose e de alimentos. Em nível global, as celulasas estão na posição de terceira enzima mais utilizada industrialmente. Hoje em dia, a aplicação que mais se destaca é a transformação de resíduos lignocelulósicos em açúcares que podem ser fermentados para produção do bioetanol.

As celulasas são divididas conforme seu ponto de trabalho na molécula da celulose, categorizadas principalmente por três tipos principais: Glucanases presentes interior (EGAses): atuando de forma que, as ligações internas são quebradas ; Exoglucanases (ExGases): trabalham mais nas pontas da cadeia de celulose; β -glicosidasases (β Gases): são responsáveis por quebrar os oligossacarídeos solúveis, mudando-os em glicose.

A enzima Celulase tem papel importante na quebra da celulose um polissacarídeo que está presente principalmente nas células das plantas e desempenha papel importante na estrutura celular. A celulase está presente em quase todo tipo de alimento, farmacêuticos, papéis, papelão, entre outros.

MATERIAIS E MÉTODOS

Coleta

A coleta do mandacaru (*Cereus jamacaru*) foi feita na região de Jequie-BA, foi cortado e devidamente preparado para transporte e encaminhado para armazenamento e posterior tratamento. A metodologia utilizada necessitava que o mandacaru estivesse na forma de pó, necessitando de um prévio tratamento do substrato, onde foi feita a retirada dos espinhos, efetuou a secagem e logo após, triturar e moer, só então peneirar e utilizar o substrato em pó.

Meio de cultura

A utilização de substrato foi feita em 10 gramas de mandacaru em pó, para fermentação em estado sólido, e os fungos *Pleurotus Ostreatus* e *Ganoderma lucidum*

em forma de triplicata para ter-se uma melhor análise dos resultados. Utilização de estufa BOD (Demanda bioquímica de Oxigênio) para produção de enzimas e “crescimento” do fungo, por 3, 6, 9, 12 e 15 dias, com análise também da umidade do substrato. Posteriormente, adicionou-se 100 ml de água destilada então levou-se ao shake 150rpm (rotação por minuto) por 24 horas.

Leitura Espectrofotométrica

Após agitação durante 24 horas no shake, efetuou-se a filtração com gaze para melhor desempenho da filtração do extrato obtido, e então levou a centrifugar por 30 minutos à 3200 rpm. Coletar a solução, retirando o precipitado formado.

Com a solução obtida após a centrifugação, retirar 200uL do extrato bruto obtido, misturar com Carboximetilcelulose (CMC) 1% e levar a banho-maria 50°C durante 30 minutos, logo após utilizou-se 400uL de ácido 1,5-di-nitrosalicílico (DNS) , e levar novamente a banho-maria, porém em 100°C durante 5 minutos.

Após isso adicionou 4 ml de água destilada e levou-se a espectrofotômetro UV VIS 540 nanômetros (nm) e anotou-se valores obtidos de absorbância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 e 2 abaixo, encontramos os resultados do planejamento, utilizando os diferentes fungos *Pleurotus Ostreatus* e *Ganoderma lucidum* respectivamente:

Tabela 1: valor de celulase em atividade específica utilizando o fungo *Pleurotus Ostreatus*

Experimentos	Tempo (dias)	Umidade (%)	Atividade específica (u/g)
1	6	80	0,379
2	12	80	0,725
3	3	70	0,007
4.1	9	70	0,135
4.2	9	70	0,215
4.3	9	70	0,258
5	15	70	1,071
6	6	60	0,522
7	12	60	1,077

Tabela 2: valor de celulase em atividade específica utilizando o fungo *Ganoderma lucidum*

Experimentos	Tempo (dias)	Umidade (%)	Atividade específica (u/g)
--------------	--------------	-------------	----------------------------

1	6	80	0,273
2	12	80	0,542
3	3	70	0,364
4.1	9	70	0,047
4.2	9	70	0,294
4.3	9	70	0,010
5	15	70	0,636
6	6	60	0,039
7	12	60	0,064

Podemos perceber que o mandacaru com os dois fungos foi capaz de produzir a enzima celulase. Para o fungo *Pleurotus Ostreatus*, o experimento que apresentou maior produção foi o experimento 7, com as condições de 12 dias e umidade de 60%, com produção de atividade enzimática de 1,077 u/g. Já para o fungo *Ganoderma lucidum*, o experimento que apresentou maior produção foi de 5 dias e umidade de 70%, com produção de atividade enzimática de 0,636 u/g.

CONCLUSÕES/CONSIDERAÇÕES

Diante dos resultados obtidos, pode-se afirmar que o pó do *Cereus jamacaru* (mandacaru) mostrou-se um substrato alternativo viável e promissor para a produção de celulases por meio de fermentação em estado sólido. Para o fungo *Pleurotus Ostreatus*, o experimento que apresentou maior produção foi o experimento 7, com as condições de 12 dias e umidade de 60%, com produção de atividade enzimática de 1,077 u/g. Já para o fungo *Ganoderma lucidum*, o experimento que apresentou maior produção foi de 5 dias e umidade de 70%, com produção de atividade enzimática de 0,636 u/g. Tais resultados evidenciam a capacidade do Mandacaru em ser um substrato alternativo viável para ser degradado de forma eficiente com os fungos testados para a produção de celulase.

Recomenda-se, para trabalhos futuros, a otimização de parâmetros como pH, temperatura e complementação nutricional do meio, bem como a avaliação de outros microrganismos ou técnicas complementares para melhor desempenho dos resultados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, Produção e purificação da(s) celulase(s) produzida(s) pelo fungo *Coleosporium plumeriae* em diferentes meios de cultura. Ufal.br, 2021.

CALVO, B. et al. Effects of lignocellulolytic enzymes produced by *Pleurotus ostreatus* on the nutritive value of whole-plant corn silage. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <https://ppz.uem.br/trabalhos-de-conclusao/teses/2020/bruna-agustinho.pdf?utm_source>. Acesso em: 24 set. 2025.

CARDOSO, W. S. et al. Multi-enzyme complex of white rot fungi in saccharification of lignocellulosic material. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 49, n. 4, p. 879–884, 14 ago. 2018.

COSTA, L. A. M. et al. Avaliação da produção e da atividade antioxidante de *Pleurotus ostreatus* cultivado em substratos lignocelulósicos. *Cadernos de Ciência & Tecnologia*, v. 39, n. 2, p. 26933, 12 jul. 2022.

DENTI, A. F. et al. Enzimas e suas aplicações com ênfase na indústria de alimentos. *Revista Perspectiva*, v. 46, n. 175, p. 51–68, 16 set. 2022.

DENTI, A. F. Tecnologia enzimática: classificação, imobilização, suportes e aplicações. *Revista Perspectiva*, v. 45, n. 171, p. 97–110, 13 out. 2021.

FLORENCIO, C.; BADINO, A. C.; FARINAS, C. S. Current challenges on the production and use of cellulolytic enzymes in the hydrolysis of lignocellulosic biomass. *Química Nova*, 4 ago. 2017.

JOSÉ, M. Estudo fitoquímico e atividades antioxidante e antimicrobiana de uma população de *Cereus jamacaru* DC (Cactaceae). Uepb.edu.br, 2020.

MARTINS, I. M. N. B. R. et al. Production and characterization of cellulases and hemicellulases from a consortium between *Pleurotus ostreatus* and *Aspergillus niger* cultured in agro-industrial wastes. *Research, Society and Development*, v. 10, n. 10, p. e396101019020–e396101019020, 14 ago. 2021.

RANJAN, R. et al. Technological road map of Cellulase: A comprehensive outlook to structural, computational, and industrial applications. *Biochemical Engineering Journal*, v. 198, p. 109020, 1 set. 2023.

SANQUETTA, C. R. et al. Mercado de Celulose No Brasil e em Cinco Grandes Países. *BIOFIX Scientific Journal*, v. 5, n. 2, p. 189, 2 jul. 2020.

SILVA, R. N. da; SILVA, R. R. da; OLIVEIRA, T. B. de. Produção e caracterização de celulasas por fungos filamentosos isolados de solo da Caatinga. *Revista de Administração, Management and Environment*, Maringá, v. 15, n. 1, p. 1-15, 2021.

SILVA, L. P. DA et al. Uso de substratos alternativos na produção de mudas de pimenta e pimentão. *Colloquium Agrariae*. ISSN: 1809-8215, v. 15, n. 3, p. 104–115, 6 jun. 2019.

SUBISSAY, HERITIER KABAMBA. Determinação de temperatura ótima e ótimo das celulasas produzidas por *Penicillium* sp. FSDE 15. Ufpb.br, 2022.