

## APLICAÇÃO DE PRÉ-TRATAMENTO BIOLÓGICO E SACARIFICAÇÃO SOBRE A BIOMASSA RESIDUAL DO PROCESSAMENTO DE MANDIOCA VISANDO PRODUÇÃO DE BIOGÁS<sup>1</sup>

Rainy Fernandes Rocha<sup>2</sup>, Nívio Batista Santana<sup>3</sup>.

### RESUMO

O presente estudo avaliou o pré-tratamento biológico da casca de mandioca por fermentação em estado sólido (FES) utilizando *Penicillium roqueforti*, seguido de sacarificação para liberação de açúcares fermentáveis e análise da estabilidade enzimática. A FES mostrou-se eficiente na degradação parcial da biomassa lignocelulósica, com produção significativa de enzimas lignocelulolíticas. A atividade enzimática sem a etapa de sacarificação apresentou picos iniciais seguidos de oscilações, refletindo a dinâmica metabólica do fungo, enquanto após a sacarificação a atividade residual manteve-se estável, indicando que a pré-hidrólise modulou a necessidade de síntese enzimática e favoreceu um padrão mais linear. A produção de açúcares redutores foi mais estável na condição com sacarificação, evidenciando a importância dessa etapa para disponibilizar substrato de forma contínua e homogênea. Os resultados sugerem que o sétimo dia de fermentação corresponde ao ponto de maior produção enzimática e à melhor estabilidade pós-sacarificação, destacando a casca de mandioca como substrato promissor para FES e a sacarificação como estratégia eficaz para aumentar a eficiência de processos fermentativos voltados à produção de biogás.

**PALAVRAS-CHAVE:** fermentação em estado sólido; *Penicillium roqueforti*; produção enzimática.

### APPLICATION OF BIOLOGICAL PRETREATMENT AND SACCHARIFICATION ON RESIDUAL BIOMASS FROM CASSAVA PROCESSING FOR BIOGAS PRODUCTION

### ABSTRACT

This study evaluated the biological pretreatment of cassava peels by solid-state fermentation (SSF) using *Penicillium roqueforti*, followed by saccharification to release fermentable sugars and analysis of enzymatic stability. SSF proved efficient in the partial degradation of lignocellulosic biomass, with significant production of lignocellulolytic enzymes. Enzymatic activity without the saccharification step showed initial peaks followed by oscillations, reflecting the metabolic dynamics of the fungus, while after saccharification, residual activity remained stable, indicating that pre-hydrolysis modulated the need for enzymatic synthesis and favored a more linear pattern. The production of reducing sugars was more stable in the saccharified condition, highlighting the importance of this step in providing a continuous and homogeneous substrate. The

---

<sup>1</sup> Pesquisa financiada pela Fundação de Amparo à Pesquisa da Bahia (FAPESB).

<sup>2</sup> Estudante de graduação do curso de Engenharia de Alimentos, UESB, Campus Itapetinga-BA.

<sup>3</sup> Docente do Departamento de Tecnologia Rural e Animal - DTRA, UESB, Campus Itapetinga-BA.

results suggest that the seventh day of fermentation corresponds to the point of highest enzyme production and best post-saccharification stability, highlighting cassava peel as a promising substrate for FES and saccharification as an effective strategy to increase the efficiency of fermentation processes aimed at biogas production.

KEYWORDS: solid-state fermentation; *Penicillium roqueforti*; enzyme production.

## INTRODUÇÃO

A busca por fontes de energia renováveis tem impulsionado o interesse pelo biogás, um combustível limpo e versátil resultante da digestão anaeróbia de resíduos orgânicos. Além de reduzir a dependência de combustíveis fósseis, a produção de biogás contribui para a valorização de resíduos agroindustriais, minimizando impactos ambientais e gerando energia sustentável (Mutemi et al., 2009; Szűcs et al., 2021).

No entanto, a utilização de resíduos lignocelulósicos, como a casca de mandioca, enfrenta desafios devido à complexidade estrutural desses materiais. A presença de lignina, a cristalinidade da celulose e as barreiras físico-químicas limitam o acesso enzimático aos polissacarídeos, reduzindo a eficiência da conversão em açúcares fermentáveis e, conseqüentemente, a produção de biogás (Szűcs et al., 2021).

Nesse contexto, o pré-tratamento biológico por meio da fermentação em estado sólido (FES) surge como uma alternativa promissora. A FES é caracterizada pelo crescimento microbiano em substratos sólidos com baixa umidade e oferece vantagens como menor custo energético, ausência de compostos tóxicos e maior estabilidade enzimática. Fungos filamentosos, devido à sua capacidade de produzir enzimas lignocelulolíticas, destacam-se nesse processo, permitindo a degradação parcial da lignina e aumentando a disponibilidade dos carboidratos para etapas subsequentes, como a sacarificação (Mutemi et al., 2009; Ferraz et al., 2018).

Entre os microrganismos utilizados, o fungo *Penicillium roqueforti* apresenta potencial para produção de enzimas de interesse industrial. Estudos mostram que extratos enzimáticos produzidos por esse fungo em resíduos agroindustriais apresentam atividade celulolítica significativa, podendo favorecer a hidrólise da biomassa lignocelulósica e a liberação de açúcares fermentáveis (Ferraz et al., 2018). Assim, este trabalho teve como objetivo aplicar o pré-tratamento biológico da casca de mandioca utilizando *P. roqueforti*, submeter o material pré-tratado à sacarificação para a liberação de açúcares fermentáveis e avaliar a estabilidade enzimática após a etapa de sacarificação, visando contribuir para o aumento da eficiência na produção de biogás.

## MATERIAIS E MÉTODOS

As cascas de mandioca foram lavadas, higienizadas e secas em estufa de circulação de ar a 60 °C até atingirem peso constante, sendo posteriormente trituradas em moinho de facas para obtenção da farinha.

A fermentação em estado sólido (FES) foi conduzida em frascos Erlenmeyer de 125 mL contendo 5 g de farinha, ajustados a 70% de umidade com água destilada estéril, e incubados a 25 °C por sete dias. Amostras foram coletadas diariamente para análise de atividade enzimática e açúcares redutores.

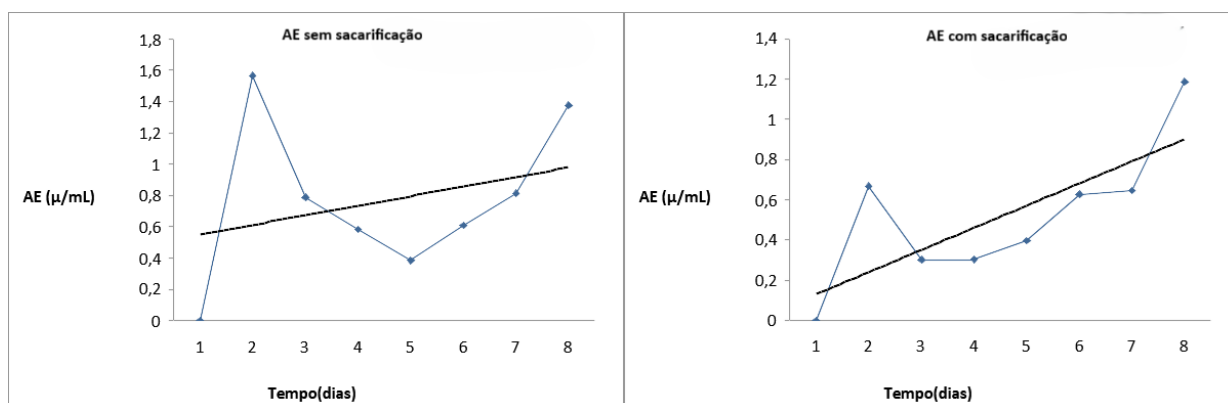
Após a fermentação, foi realizado o processo de sacarificação. A amostra sem sacarificação foi agitada por 30 minutos a temperatura ambiente, enquanto a amostra com sacarificação foi incubada e agitada por 1 h a 50 °C.

Para determinação da atividade enzimática (AE), o material fermentado foi centrifugado a 10.000 rpm por 10 min e o sobrenadante coletado como extrato enzimático. Em seguida, a reação enzimática foi realizada adicionando amido solúvel 1% em tampão fosfato 0,05 M (pH 7,0), incubada a 50 °C por 30 min, paralisada com DNS, aquecida a 100 °C por 6 min e resfriada em gelo. A absorbância foi medida a 540 nm, utilizando tubos sem adição de amostra como controle (Miller, 1959).

Para a análise de produção de açúcar, a amostra foi centrifugação (10.000 rpm/10 min), o sobrenadante foi coletado. Em seguida, os açúcares redutores quantificados pelo método do DNS, utilizando curva padrão de glicose (Miller, 1959).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 apresenta a variação da atividade enzimática (AE) ao longo do tempo sem a etapa de sacarificação e com sacarificação.



**FIGURA 1:** Variação da atividade enzimática (AE) sem sacarificação e com sacarificação ao longo do tempo para a primeira amostra.

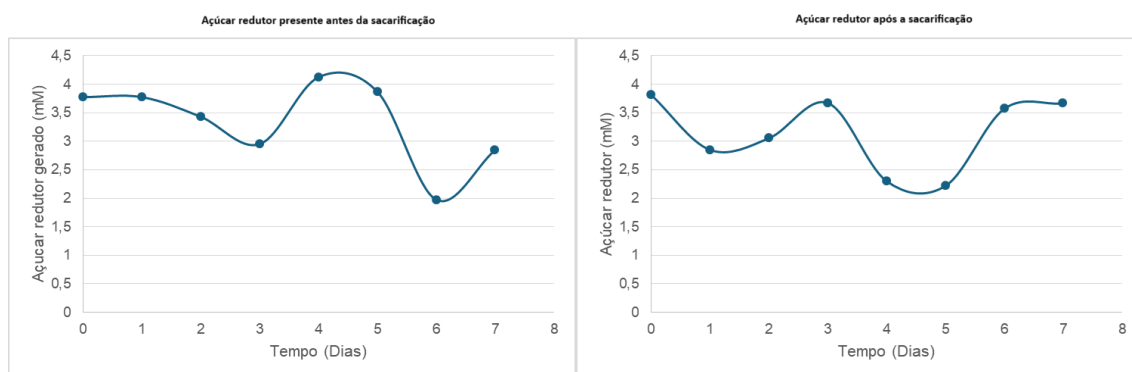
A atividade enzimática sem a etapa de sacarificação apresentou um pico já no primeiro dia de fermentação, atingindo 1,56 U/mL. Esse comportamento está relacionado à fase logarítmica do crescimento de *Penicillium roqueforti*, quando há maior necessidade de nutrientes para sustentar o desenvolvimento celular. Inicialmente, o fungo produz grandes quantidades de enzimas para degradar rapidamente o amido disponível e liberar glicose, sua principal fonte de energia. À medida que a glicose se acumula no meio, ocorre um efeito de repressão, reduzindo a síntese enzimática. A produção volta a aumentar apenas quando a concentração de glicose diminui, estimulando novamente a secreção de enzimas para degradar o substrato e garantir a sobrevivência e crescimento do microrganismo. De acordo com Souza et al. (2014) e Pandey et al. (2000), essa fase inicial da fermentação é caracterizada por altas taxas metabólicas e maior produção de enzimas, sobretudo quando substratos acessíveis, como resíduos amiláceos, estão disponíveis.

Após esse pico inicial, verificou-se uma queda acentuada da atividade, atingindo 0,38 U/mL no quarto dia. Essa redução pode ser atribuída à instabilidade estrutural das enzimas, ao esgotamento parcial do substrato ou ao acúmulo de produtos metabólicos inibidores, como ácidos orgânicos e etanol, fatores comuns em processos fermentativos (FRANCO et al., 2022). Além disso, oscilações no pH local e na atividade de água (Aw) podem ter contribuído para a diminuição da estabilidade enzimática. A partir desse ponto, observou-se uma recuperação gradual, alcançando 1,37 U/mL ao final do sétimo dia, o que sugere possível adaptação metabólica do fungo ou uma segunda fase de síntese enzimática em resposta à limitação de nutrientes (SILVA et al., 2018). Esse comportamento, marcado por oscilações, reflete um perfil normal de produção de enzimas em FES.

No ensaio de atividade enzimática residual, realizado após a etapa de sacarificação para cada tempo de fermentação, observou-se um comportamento distinto. A atividade inicial foi relativamente baixa (0,66 U/mL no primeiro dia), possivelmente em função da pré-hidrólise parcial dos polissacarídeos, que reduziu a necessidade imediata de síntese enzimática pelo fungo (Ferraz et al., 2018). No entanto, mesmo após a sacarificação, a enzima manteve-se estável ao longo dos dias, com valores residuais constantes até o terceiro dia e incremento progressivo a partir do quarto, atingindo o máximo de 1,18 U/mL no sétimo dia. Esse resultado indica que, além de o sétimo dia corresponder à maior produção enzimática, ele também representa o

momento ideal para realizar a sacarificação, pois a atividade residual permanece elevada, garantindo maior estabilidade e eficiência do processo hidrolítico (Szűcs et al., 2021).

Na Figura 2 apresenta o comportamento da produção de açúcares ao longo de sete dias de fermentação, comparando as condições com e sem a etapa de sacarificação.



**FIGURA 2:** Produção de açúcares durante sete dias de fermentação em estado sólido, nas condições sem sacarificação e com sacarificação.

A análise da atividade enzimática e da geração de açúcares redutores ao longo do processo fermentativo evidencia diferenças significativas entre as condições com e sem sacarificação prévia. Na ausência da etapa de sacarificação, a concentração de açúcares redutores apresentou oscilações mais acentuadas, com picos notáveis, como no quarto dia de fermentação (4,12 mM), seguidos por quedas, atingindo valores mínimos de 1,97 mM no sexto dia. Esse comportamento pode ser atribuído à liberação intermitente de açúcares a partir da hidrólise enzimática natural, seguida de consumo microbiano, resultando em momentos de maior e menor disponibilidade de substrato para o processo fermentativo.

Por outro lado, na condição com sacarificação, a liberação de açúcares redutores foi mais estável ao longo dos dias, com menor amplitude de variação e valores finais próximos aos iniciais (3,66 mM no sétimo dia). Esse resultado sugere que a etapa de sacarificação promoveu a quebra prévia dos polissacarídeos, disponibilizando açúcares simples de forma mais contínua e homogênea para os microrganismos, reduzindo oscilações e favorecendo um metabolismo mais equilibrado durante a fermentação. Os dados de atividade enzimática corroboram essas observações, indicando que a sacarificação contribui para um padrão não linear.

Em termos práticos, a etapa de sacarificação se mostra vantajosa para processos fermentativos que exigem fornecimento contínuo de substrato, podendo contribuir para maior eficiência e rendimento, especialmente em sistemas onde a estabilidade na disponibilidade de açúcares redutores é desejável para o desempenho microbiano (SOARES, 2013).

## CONCLUSÕES/CONSIDERAÇÕES

Os resultados demonstraram que a enzima manteve atividade mesmo após a etapa de sacarificação, confirmando sua estabilidade funcional frente ao processo. O sétimo dia de cultivo destaca-se como o ponto de maior produção enzimática, coincidindo também com o maior nível de atividade residual após a sacarificação. Dessa forma, os resultados evidenciam o potencial da farinha de casca de mandioca como substrato em fermentação em estado sólido e reforçam a sacarificação como etapa estratégica para potencializar a eficiência do processo fermentativo como pré-tratamento da casca para produção de biogás.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

FERRAZ, J. L. A. et al. Enzymatic saccharification of lignocellulosic residues using cellulolytic enzyme extract produced by *Penicillium roqueforti* ATCC 10110 cultivated on residue of yellow mombin fruit. *Biomass and Bioenergy*, v. 112, p. 52-60, 2018.

FRANCO, Míriam; SOUSA, Caroline; ALMEIDA, Paulo; MORAIS, Livia. **UTILIZAÇÃO DO FUNGO DO GÊNERO *PENICILLIUM* EM FERMENTAÇÃO EM ESTADO SÓLIDO: UMA REVISÃO.** Atena Editora, 2022. Disponível em: <https://atenaeditora.com.br/catalogo/post/-utilizacao-do-fungo-do-genero-penicillium-em-fermentacao-em-estado-solido-uma-revisao>. Acesso em: 20 maio 2025.

MILLER, Gail Lorenz. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical chemistry*, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959.

MUTEMI, M.; MSHANDETE, A. M.; KIVIASI, A. Two-Stage Fungal Pre-Treatment for Improved Biogas Production from Sisal Leaf Decortication Residues. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 10, n. 11, p. 4805-4815, 2009.

PANDEY, Ashok; SELVAKUMAR, Ponnuswamy; SOCCOL, Carlos; NIGAM, Poonam. **SOLID STATE FERMENTATION FOR THE PRODUCTION OF INDUSTRIAL ENZYMES.** *Current Science*, v. 77, n. 1, p. 149–162, 2000.

SILVA, Ana; NASCIMENTO, João; FREITAS, Larissa; SOARES, Henrique. **ASPECTOS BIOTECNOLÓGICOS DA PRODUÇÃO DE ENZIMAS POR FUNGOS FILAMENTOSOS EM FERMENTAÇÃO EM ESTADO SÓLIDO.** *Revista Brasileira de Biotecnologia*, v. 25, n. 4, p. 89–101, 2018.

**SOARES, Mariana de Lucena.** *Efeitos do teor de lignina na sacarificação e fermentação simultânea do bagaço de cana-de-açúcar para produção de etanol.* Recife, 2013. Dissertação (Mestrado) — Universidade Federal de Pernambuco, Programa de Pós-graduação em Biotecnologia Industrial, 2013.

SOUZA, Diego; PEREIRA, Luciana; CASTRO, Mariana; ALMEIDA, Rafael. **PRODUÇÃO DE ENZIMAS POR FUNGOS UTILIZANDO RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS EM FERMENTAÇÃO NO ESTADO SÓLIDO.** *Revista de Ciências Exatas e Naturais*, v. 16, n. 2, p. 199–206, 2014.

SZÚCS, C. et al. Enhancing biogas production from agroindustrial waste pre-treated with filamentous fungi. *Biologia Futura*, v. 72, n. 3, p. 341-346, 2021.