

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ROSANIA FIGUEREDO DA SILVA

AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE CELULASES PELO FUNGO *Trichoderma sp.*
UTILIZANDO PALHA DE TRIGO COMO SUBSTRATO EM FERMENTAÇÃO
SUBMERSA

PALOTINA

2023

ROSANIA FIGUEREDO DA SILVA

AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE CELULASES PELO FUNGO *Trichoderma sp.*
UTILIZANDO PALHA DE TRIGO COMO SUBSTRATO EM FERMENTAÇÃO
SUBMERSA

TCC apresentado ao curso de Graduação em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, Setor de Palotina, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Tania Sila Campioni Magon.

PALOTINA
2023



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIAS E EXATAS
Rua Pioneiro, 2153, - - Bairro Jardim Dallas, Palotina/PR, CEP 85950-000
Telefone: 3360-5000 - <http://www.ufpr.br/>

ATA DE REUNIAO

Aos quinze dias do mês de fevereiro do ano de dois mil e vinte e três, as catorze horas, na Sala 16, Seminário, Universidade Federal do Paraná, Setor Palotina, realizou-se a Defesa Pública e Oral do Trabalho de Conclusão de Curso intitulado "Produção de Celulose a partir da Palha de Trigo *Trichoderma reesei*" apresentado pela discente Rosania Figueredo da Silva, orientada pela Profa. Dra. Tania Sila Campioni Magon, como um dos requisitos obrigatórios para conclusão do curso de graduação em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia. Iniciados os trabalhos, a orientadora e Presidente da Banca concedeu a palavra à discente, para exposição do seu trabalho. A seguir, foi concedida a palavra em ordem sucessiva aos membros da Banca de Exame, os quais passaram a arguir a discente. Ultimeira a defesa, que se desenvolveu nos termos normativos, a Banca de Exame, em sessão secreta, passou aos trabalhos de julgamento, tendo atribuído à discente as seguintes notas: Profa. Dra. Adriana Fiorini Rosado: nota oitenta e cinco, Prof. Dr. Fabio Rogério Rosado, nota: oitenta e cinco, e Profa. Dra. Tania Sila Campioni Magon, nota: oitenta e cinco. A nota final da discente, após a média aritmética dos três membros da banca de exame, foi **oitenta e cinco**. As considerações e sugestões feitas pela Banca de Exame deverão ser atendidas pela discente sob acompanhamento de sua orientadora. Nada mais havendo a tratar foi lavrada a presente ata, que, lida e aprovada, vai por todos assinada eletronicamente.



Documento assinado eletronicamente por **TANIA SILA CAMPIONI MAGON, PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 15/02/2023, as 15:25, conforme art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



Documento assinado eletronicamente por **ADRIANA FIORINI ROSADO, PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 15/02/2023, as 15:27, conforme art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



Documento assinado eletronicamente por **FABIO ROGERIO ROSADO, PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em 15/02/2023, as 15:30, conforme art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



A autenticidade do documento pode ser conferida [apqui](#) informando o código verificador **5284452** e o código CRC **9497964C**.

AGRADECIMENTOS

A Deus que me permitiu concluir esse trabalho, com saúde e sabedoria para vencer mais esse ciclo de minha vida.

Ao minha família (Lourdes, Rosenilda, Celso) e aos meus filhos Fabiano Pinheiro Sobrinho e Ítalo F. Dias Pinheiro, por estarem ao meu lado sempre.

Ao apoio da UAPS (Unidade de Apoio Psicossocial PROBEM), pelo seu apoio com os auxílios e consultas, igualmente importantes.

À Prof.^a Dr.^a Tania Sila Campioni Magon, pela orientação, confiança, paciência e disposição durante o desenvolvimento da pesquisa.

Ao Prof.^o. Dr.^o Fábio Rogério Rosado, pelo fornecimento do fungo *Trichoderma sp.*

À Prof.^a Dr.^a Adriana Fionrini Rosado, pela ajuda com o fornecimento do espaço do NEMA, para as realizações das atividades relacionadas às análises.

À técnica Susi, pela sua colaboração, amizade, seu carinho e atenção, durante todo o semestre de pesquisa.

Agradeço as pessoas que de forma direta ou indiretamente, fizeram parte deste processo, OBRIGADA!

RESUMO

A geração de resíduos no setor agroindustrial e sua destinação são atualmente muito discutidas e estudadas, tanto pelo setor produtivo quanto por empresas que investem em pesquisa e inovação, buscando constantemente dar destinação correta e útil a estes produtos. Os resíduos agrícolas apresentaram diversas vantagens, entre elas, sua abundância, baixo custo e também são considerados uma fonte natural de carbono. Atualmente no Brasil se faz pouco uso desses resíduos, porém, diversas pesquisas apontam a utilização dessa biomassa em outros processos, que é considerada uma nova matéria-prima. A produção de enzimas fúngicas utilizando resíduo agroindustrial como substrato está sendo muito estudada e trazendo bons resultados. Para a avaliação atividade enzimática da celulase total em cultivo submerso, foram utilizados a palha de trigo e o fungo *Trichoderma sp.* A palha de trigo foi adicionada ao meio de cultivo, juntamente com o fungo *Trichoderma sp.*, ficando sob agitação orbital a 180 rpm, durante 15 dias, a 28 °C. Após a realização das análises de atividade enzimática celulolítica total, durante os dias de cultivo, constatou-se que houve produção de celulases através desta metodologia, bem como que ao 9° dia de cultivo, foi observado um pico de atividade enzimática. Estudos posteriores de otimização do meio de cultivo e da condução do bioprocessamento poderiam ajudar a aumentar a produção de celulases, visto a comparação com outros trabalhos que apresentam maiores atividades para esta enzima.

Palavras-chave: Fungo *Trichoderma sp.* Celulase. Palha de trigo.

ABSTRACT

The generation of waste in the agro-industrial sector and its destination are currently much discussed and studied, both by the productive sector and by companies that invest in research and innovation, constantly seeking to correctly and usefully dispose of these products. Agricultural residues had several advantages, including their abundance, low cost and are also considered a natural source of carbon. Currently in Brazil little use is made of these residues, however, several studies point to the use of this biomass in other processes, which is considered a new raw material. The production of fungal enzymes using agroindustrial waste as a substrate is being extensively studied and yielding good results. For the evaluation of the enzymatic activity of total cellulase in submerged cultivation, wheat straw and the fungus were used. *Trichoderma sp.* Wheat straw was added to the culture medium, along with the fungus. *Trichoderma sp.*, remaining under orbital agitation at 180 rpm, for 15 days, at 28 °C. After carrying out the analysis of total cellulolytic enzymatic activity, during the days of cultivation, it was verified that there was production of cellulases through this methodology, as well as that on the 9th day of cultivation, a peak of enzymatic activity was observed. Further studies of optimization of the culture medium and conduction of the bioprocess could help to increase the production of cellulases, considering the comparison with other works that present greater activities for this enzyme.

Keywords: fungus *Trichoderma sp.* Cellulase. Wheat straw.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – DADOS DA CULTURA E QUANTIDADES ESTIMADOS DE RESÍDUOS GERADOS NO PROCESSAMENTO DO TRIGO (2009).	16
FIGURA 2 - MECANISMO DE AÇÃO DAS CELULASES	19
FIGURA 3 – GRÁFICO ABS (nm) X GLICOSE (mg/0,5 mL) USADO COMO CURVA PADRÃO PARA DETERMINAR A ATIVIDADE ENZIMÁTICA DA CELULASE	22
FIGURA 4 – PRODUÇÃO DE ENZIMA CELULASE (U/mL) PELO FUNGO <i>Trichoderma sp.</i> UTILIZANDO PALHA DE TRIGO COMO SUBSTRATO, 28 °C, 180 rpm, DURANTE 15 DIAS DE CULTIVO	23

LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

Ha	- Hectare
NEMA	- Núcleo Experimental de Micologia Aplicada
FS	- Fermentação Submersa
FES	- Fermentação em Estado Sólido

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
1.1	JUSTIFICATIVA	13
1.2	OBJETIVOS	13
1.2.1	Objetivo geral	13
1.2.2	Objetivos específicos	13
2	REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1	RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS GERADOS NO BRASIL	14
2.2	MICROORGANISMOS PRODUTORES DE ENZIMAS	17
3	ATUAÇÃO DA ENZIMA CELULASE	17
4	APLICAÇÕES INDUSTRIAIS DA CELULASE	19
4.1	MERCADO MUNDIAL DA CELULASE	20
5	MATERIAIS E MÉTODOS	20
5.1	MICROORGANISMOS	20
5.2	METODOLOGIA	20
5.2.1	Avaliação da atividade enzimática da celulase	21
5.2.2	Quantificação da atividade celulolítica total.....	21
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	24
7.1	RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	24
	REFERÊNCIAS	26

1 INTRODUÇÃO

Atualmente os processos biotecnológicos apresentam características econômicas e operacionais que conferem vantagens em relação aos processos químicos convencionais, e assim são processos tecnológicos de grande interesse. A utilização desses processos possibilitam a produção de um grande número de metabólitos de interesse industrial, incluindo enzimas, as quais podem ser obtidas a partir do reaproveitamento de recursos naturais e de resíduos da agroindústria que podem ser encontrados em abundância no Brasil, contribuindo assim, para a redução de problemas ambientais gerados pelo acúmulo destes resíduos. A fermentação submersa é utilizada para obtenção de vários metabólitos e que oferece a possibilidade de se utilizar os mais diversos tipos de resíduos, os quais podem ser mais favoráveis ao crescimento de microrganismos pela similaridade com ambientes naturais, contribuindo, também, para a economia do processo.

Investimentos em pesquisa e no desenvolvimento de novas aplicações e de bioprocessos no setor industrial de produção de enzimas estão sendo realizados recentemente devido à grande diversidade de aplicação destas. As enzimas estão sendo aplicadas nos mais diversos setores, sobretudo nas indústrias de alimentos, papel, têxtil, animal e farmacêutica, com um mercado em crescente expansão. Além disso, as enzimas apresentam outras vantagens como: ao alto grau de especificidade de reação, o que contribui com a eficiência do processo, e por se tratar de um produto natural biológico pode ter sua atividade regulada e ainda atuar em concentrações baixas sob condições brandas de pH e temperatura.

1.1 JUSTIFICATIVA

Ao observar a quantidade de resíduos agroindustriais produzidos no Brasil, notou-se a possibilidade de desenvolver um projeto de pesquisa com ênfase na difusão do conhecimento sobre a produção de enzimas celulases totais utilizando resíduos agroindustriais como substrato para fermentação fúngica submersa.

1.2 OBJETIVOS

Objetivo geral

Analisar atividade enzimática celulolítica total de um extrato produzido através do fungo *Trichoderma sp.*, isolado da reserva de São Camilo/PR, em cultivo submerso utilizando a palha de trigo como substrato lignocelulósico, visando um meio de cultivo de baixo custo.

Objetivos específicos

- a) Levantar a quantidade de resíduos agroindustriais provenientes da plantação de trigo produzidos no Brasil.
- b) Identificar a espécie do fungo *Trichoderma sp.*, o qual foi isolado na Reserva de São Camilo/PR.
- c) Verificar a produção das enzimas celulase (celulase total), em U/mL, pelo fungo *Trichoderma sp.* utilizando palha de trigo como substrato, em cultivo submerso.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS GERADOS NO BRASIL

A geração de resíduos agroindustriais tem sido uma grande problemática ambiental, social e econômica no Brasil, à vista disso, a procura de novas fontes para geração de novos produtos, como para produção de enzimas e geração de energia renovável, tem crescido cada vez mais. Dessa maneira, uma das alternativas é o emprego da biomassa como substrato para esse fim, colaborando com o meio ambiente e diminuindo o seu descarte na natureza, que muitas das vezes é feita de forma inadequada. (ALENCAR et al., 2020).

Com base no resultado da produção agropecuária e silvicultura para o ano de 2015, a geração de resíduos no Brasil agroindustriais se aproximará de 775 milhões de toneladas, também chamado de RASP (AMBIENTE, 25 nov. 2022.). Os resíduos relacionados as atividades agropecuárias, por exemplo, palhas de milho, casca de arroz e silviculturas, como serragem, maravalha, resíduos de serraria e seus insumos utilizados nas atividades no setor, por exemplo, as embalagens de fertilizantes e de agrotóxicos (AMBIENTE, 25 nov. 2022.).

Estudos feitos no ano de 2021, apontam recuperação da colheita de grãos com uma estimativa de 288,61 milhões de toneladas na produção brasileira para a safra 2021/2022, são hipóteses levantadas referente à safra que está sendo plantada. O Brasil terá como recorde mundial, se a projeção for confirmada, com índices de crescimento de 14,2% com relação à safra 2020/2021. Com a estimativa de plantio em uma área no território brasileiro de 71,5 milhões de hectares, aproximadamente 4% a mais, totalizando uma colheita de 252,74 milhões de toneladas (GLOBO RURAL, 2021).

A produção de trigo em 2022 quando comparado no ano de 2019, dobra, atingindo uma colheita de 5,1 milhões de toneladas, representando um aumento de 23,7% em relação à safra passada, significando a estimativa de 9,5 milhões de toneladas (CONAB, 2022).

Devido às condições climáticas, a Argentina deve apresentar queda na safra, deste ano de 2023, com uma colheita de 22 milhões de toneladas na safra passada, para esse ano estima-se cerca de 15,5 milhões de toneladas, devido às exportações portenhas que devem sair de 16 milhões de toneladas para 10 milhões de toneladas e o clima que também afeta a qualidade do grão cultivado na Austrália (CONAB, 2022).

O Brasil vendeu mais de 3 milhões de toneladas do grão de trigo, volume deve manter para a safra 2022/2023, em contra partida o consumo interno tende apresentar crescimento em torno de 2%, que estima aproximadamente 12,23 milhões de toneladas, com tudo, espera-se um acréscimo no estoque durante o mês de julho/23, o qual pode chegar a 1,08 milhão de toneladas. Portanto, com o aumento da produção na última safra existe perspectiva de uma exportação recorde para o grão de trigo (CONAB, 2022).

Os principais produtores são o Paraná e Rio Grande do Sul concentram a maior parte da produção de trigo, os dois juntos concentram mais de 8 milhões de toneladas da colheita, cerca de 86% de tudo que é produzido no país, no estado do Paraná, a produção nesta safra está em torno de 3,51 milhões de toneladas, um aumento de 9,6% comparando com a safra 2021/2022, já o estado do Rio Grande do Sul, o crescimento é de 36 %, produção estimada de 4,75 milhões de toneladas (CONAB, 2022).

Dados da Conab – Companhia Nacional de abastecimento informam que a análise dos dados de área de plantio (mil ha), produtividade (kg/ha) e da safra brasileira de grãos de trigo de 2022/23, aumentaram em 1%, 1,3% e 2,3%, respectivamente, quando comparado aos períodos da safra de 21/22 e dezembro de 22.

O trigo é o segundo cereal mais cultivado no mundo, assim sendo importante para a economia agrícola mundial, No Brasil, o trigo é plantado nas regiões Sul, Suldeste e Centro-Oeste. Foram 56,1 milhões de toneladas do grão produzido para ambas safras em 2010 nacionalmente (SCHNEIDER et al., 2012). Com o volume de 6,9 milhões de toneladas primeira safra e 6,6 milhões de toneladas na segunda safra, o Paraná é o principal produtor nacional de trigo correspondendo 24,2 % (SCHNEIDER et al, 2012). De acordo com os estudos realizados, os resíduos da agroindústria de trigo, se tratando de fator percentual é cerca de 60 %. Na Figura 1, constam os dados de área plantada, área colhida, produção total colhida e a estimativa da geração de resíduos provenientes da agroindústria do trigo nos estados e nas regiões do país em 2009 (SCHNEIDER et al, 2012).

FIGURA 1 – DADOS DA CULTURA E QUANTIDADES ESTIMADOS DE RESÍDUOS GERADOS NO PROCESSAMENTO DO TRIGO (2009).

UFs e grandes regiões	Área plantada (ha)	Área colhida (ha)	Produção total colhida (t)	Geração de resíduos (t)
Minas Gerais	22.987	22.887	100.979	60.587
Espírito Santo	0	0	0	0
Rio de Janeiro	0	0	0	0
São Paulo	59.738	59.738	111.224	66.734
Sudeste	82.725	82.625	212.203	127.322
Paraná	1.308.792	1.308.792	2.482.776	1.489.666
Santa Catarina	117.176	113.771	275.193	165.116
Rio Grande do Sul	859.790	855.670	1.912.138	1.147.283
Sul	2.285.758	2.278.233	4.670.107	2.802.064
Mato Grosso do Sul	44.254	43.354	74.288	44.573
Mato Grosso	0	0	0	0
Goiás	22.438	22.438	84.472	50.683
Distrito Federal	3.603	3.603	14.455	8.673
Centro-Oeste	70.295	69.395	173.215	103.929
Brasil	2.438.778	2.430.253	5.055.525	3.033.315

Fonte: (SCHNEIDER et al., 2012).

Na FIGURA 1, observa-se também que o estado que mais gera resíduos no Brasil é o Paraná, sendo 1.489.666 toneladas/ano. Com maior concentração de produção de resíduos no Sul, com 92%, enquanto que as regiões Norte e Nordeste não constam como produtoras, ao fazer o levantamento das regiões geradoras de resíduos (SCHNEIDER et al., 2012).

Os rejeitos agroindustriais são descartados na sua maioria das vezes de maneira incorreta no meio ambiente, isso acontece principalmente na área da indústria alimentícia, são rejeitos que poderiam ser aproveitados na formulação de meios para produção de enzimas por apresentarem elevado poder nutricional (NASCIMENTO et al., 2014).

A biomassa da agroindústria conta com alto valor nutritivo, no entanto, são fontes de carboidratos, proteínas, fibras e compostos bioativos com várias aplicações no âmbito econômico, isto é, nas indústrias alimentícia, farmacêutica, química e na área de bioprocessos para produção de enzimas, funcionando como substrato, (MARKET, 2022), dentre várias outras aplicações.

2.2 MICRORGANISMOS PRODUTORES DE ENZIMAS

A diversidade de microrganismos celulolíticos é imensa, obtendo isolados em quase todos os tipos lugares do planeta. Esses microrganismos possuem a capacidade de degradar a biomassa lignocelulolítica (celulose, hemicelulose e lignina), entre eles encontra-se bactérias e fungos (WEI et al., 2009; WILSON, 2008).

A implementação desses microrganismos em processos industriais vem crescendo, especialmente no processo de produção de enzimas e produtos através da degradação da biomassa (SALDARRIAGA-HERNÁNDEZ et al., 2020). Entre os fungos utilizados destacam-se o *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Chrysosporium*, *Penicillium*, *Schizophyllum*, *Trichoporium*, *Humicola*, *Sporotrichum*, *Fusarium*, *Cryptococcus* (HANSEN et al., 2015; SINDHU; BINOD; PANDEY, 2016).

Existem diversos fungos capazes de produzir celulase, assim os gêneros principais são o *Trichoderma*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Chaetomium*, *Fusarium* e *Phoma*, além do mais, as bactérias também são produtoras de celulases, como aeróbias do gênero *Acidothermus*, *Bacillus*, *Celvibrio*, *Pseuômonas*, *Staphylococcus*, *Xanthomonas*. Vale destacar as anaeróbias, *Acetovibrio*, *Bacteróides*, *Butryvibrio*, *Caldocellum*, *Clostridium*, *Erwinia*, *Eubacterium*, *Pseudonocardia*, *Ruminococcus* e *Termonoanaerobacter* (GOLDBERCK, 2012).

Apesar de existir uma vasta e variedade de microrganismos produtores de celulases, a quantidade de cepas conhecidas e consideradas celulolíticas é pequena, ou seja, aqueles capazes de degradar em grande quantidade a celulose até açúcares solúveis (TECNOLOGIA NO CAMPO, 2020).

Os fungos do gênero *Trichoderma sp.* estão sendo extensamente utilizado, pois é de rápido crescimento, várias linhagens adaptadas no meio ambiente favorecendo o desenvolvimento de estudos na produção de proteínas, encontrado em praticamente todos tipos de solo, porém mais frequente em solos de regiões de clima temperado e tropical. São fungos de características filamentosa, conhecido como mofo ou bolor (TECNOLOGIA NO CAMPO, 2020).

3 ATUAÇÃO DA ENZIMA CELULASE

Constituinte de um complexo capaz de atuar sobre materiais celulósicos, promovendo sua hidrólise, as celulases agem como biocatalisadores com alta

especificidade obtendo resultados precisos, isto é, seu funcionamento ocorre somente quando encontra o material correto (ALMEIDA, 2012), atuando em sinergia liberando açúcares.

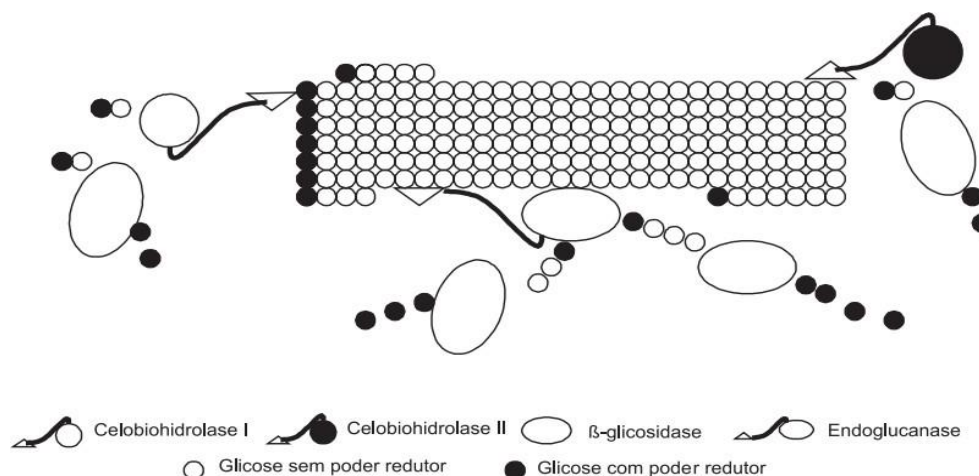
As celulasas são extensamente empregadas na indústria alimentícia em vários processos, como na extração dos componentes de óleos essenciais, proteínas de soja, aromatizantes, do amido da batata doce dentre outros processos. Existem vários microrganismos produtores de celulasas, embora são poucos que são capazes de degradar a celulose natural, conhecidos como celulolíticos (ALMEIDA, 2012).

Enzimas são consideradas biocatalisadores ecológicos, por serem capazes de funcionar em baixas temperaturas e níveis de pH moderados, são estáveis e biodegradáveis (NOVOZYMES, 2020). Celulasas são enzimas que podem degradar a celulose dos alimentos melhorando o valor nutricional e facilitando sua digestão de parte da fibra constituinte nos alimentos vegetais, considerada a enzima principal, também funcionando como fonte de energia para o corpo humano.

As celulasas (EC.3.2.1) são consideradas uma das enzimas de destaque relacionado a hidrólise enzimática de biomassa, composta por um complexo enzimático de 3-três componentes para realizar a catálise das ligações β -1,4 nos polímeros de celulose.

Um grupo de enzimas realizam a bioconversão da celulose em glicose e açúcares solúveis via hidrólise, as endoglucanases (EG) são destinadas a hidrolisar as ligações β -1,4-glucosídicas internas de forma aleatória, assim formando novas extremidades na cadeia e liberar oligossacarídeos (FIGURA 2). As celobiohidrolases (CBH) ou exoglucanases ficam responsável por desmembrar as unidades de celobiose e glicose das extremidades, via hidrólise de redutoras (CBH I) e não redutoras (CBH II). Já as β -glucosidases (BG), hidrolisam a celobiose em glicose, separa as unidades de glicose dos celooligossacarídeos, a glicose possui grau de polimerização de 6 carbonos (FIGURA 2) (BINOD et al., 2019; SANDHU, 2018).

FIGURA 2 - MECANISMO DE AÇÃO DAS CELULASES.



Fonte: CASTRO; PERREIRA, 2010.

No geral as celulases demandam de algumas condições para se obter um melhor desempenho, entre elas está sua faixa de pH ácida (3,6-5,0), temperatura acima de 40 °C, algumas substâncias podem apresentar um efeito inibitório ou indutor como os metais (Hg^{+2} , Cu^{+2} , Ag^{+} e Zn^{2+}), e suas propriedades cinéticas (V_{max} e K_m) variam conforme a metodologia adotada de quantificação, apresentação de dados, substrato e extrato enzimático utilizado (DE LIMA et al., 2005; MARTINS, 2019).

4 APLICAÇÕES INDUSTRIAIS DA CELULASE

Como um aditivo para ração animal, a aplicação da celulase nas indústrias começou em meados de 1980, com intuito de aumentar a digestão de rações para ruminante e monogástricos, logo depois, com propósito de aprimorar as propriedades sensoriais de massas, o setor alimentício começou a emprega-las como insumo, também aplicadas nas indústrias de bebidas, com finalidade de clarificar sucos de frutas e vinhos, além de manter a reologia estável para o produto final, garantindo mais qualidade (CASTRO et al., 2010).

Mais tarde as enzimas foram empregadas extensivamente nas indústrias têxtilnos processos de biopolimento, no qual os mesmos poderão ser reutilizados como matéria prima para novas fabricações, e bioestonagem é o processo o qual a enzimacelulase age removendo a tinta do fio de urdidura que é tingido por adsorção de corante índigo

blue, apresentando o fio de trama branco (LIMA, 2020), de polpa de papel, por exemplo, na liberação de tintas do papel no momento da reciclagem, de detergentes. No mercado brasileiro (importações e exportações), as celulases movimentaram uma soma de USD 1,35 milhão (CASTRO et al., 2010). Vale ressaltar que o uso das celulases em processos industriais é menos agressivo ao meio ambiente.

No cenário atual, a produção da celulase em grande proporcionalidade com baixo custo e a gestão de resíduos agroindustriais, uma vez que, é gerada uma grande quantidade dessa biomassa, conseqüentemente, colabora com a diminuição desses resíduos no ambiente, à medida que agregam valores ao mesmo.

4.1 MERCADO MUNDIAL DA CELULASE

Se tratando do uso mundial das enzimas, vem crescendo consideravelmente, a qual seus mecanismos de atuação foram descobertos em meados do século XIX, crescendo extensivamente os estudos e uso das enzimas, como citado nos textos acima, a celulase e uma delas, usada nas indústrias têxteis, indústrias de detergentes, entre outras.

Segundo o jornal Dia de Campo (2011), o mercado global das enzimas movimentou US\$3,74 bilhões até 2015, tal resultado foi devido às vendas para as indústrias alimentícias animais dentre outras seções. As expectativas para uso das enzimas são grandes, pois elas desempenham um papel fundamental biotecnológico, além de melhorar a saúde animal, são usadas em variados processos biotecnológicos no sentido de aumentar a especificidade e eficiência orgânica. O emprego das enzimas vem sendo uma alternativa excelente quando se trata de redução de gastos com insumos e redução dos impactos ambientais.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 MICRORGANISMO

O fungo *Trichoderma* sp., foi obtido da coleção de culturas do Núcleo de Micologia Aplicada (NEMA) e também palha de trigo, gentilmente cedido pelo Professor Drº. Fábio Rogério Rosado. O fungo foi coletado na Reserva de São Camilo e encontra-se conservado em meio BDA (Batata-Dextrose-Ágar) a 4 °C.

5.2 METODOLOGIA

5.2.1 Avaliação da atividade enzimática da celulase total

O farelo de trigo, na concentração de 2% (m/v), foi utilizado como substrato na fermentação submersa do fungo *Trichoderma sp.* Após passar por secagem à peso constante, passou-se por uma autohidrólise de 15 min, a 121 °C e foi triturado em liquidificador. O restante do meio de cultivo da fermentação será acrescido de: 0,11% de K_2HPO_4 , 0,1% de $(NH_4)SO_4$, 0,0017% de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,0028% de $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,1% de extrato de levedura, 0,1% de MAP ($NH_4H_2PO_4$), 0,06 % KCl e suplementado com 1% de sacarose (SILVA, et al., 2013), garantindo, desta forma, o baixo custo para o crescimento do microrganismo e atividade enzimática. Os reagentes foram pesados em balança analítica, diluídos em águas destilada, e o meio foi ajustado para o pH 5. Os ensaios da fermentação submersa foram realizados em 3 frascos “Erlenmeyer” de 250 mL, com 80 mL de meio de cultivo, em triplicata, que após passar por esterilização em autoclave, foram inoculados com 10^6 esporos/mL do fungo (CAMPIONI et al., 2020).

O cultivo permaneceu encubado por 15 dias em equipamento tipo *shaker*, 360 h (15 dias), a 28 °C, 180 rpm. A cada 48 h, a quantidade de 2 mL do meio de cultivo era retirada, de modo asséptico e congelada, para análises de atividade enzimática posteriores. Os experimentos foram realizados em triplicata.

5.2.2 Quantificação da atividade celulolítica total

Para a quantificação das atividade enzimática da celulase, foi utilizada a metodologia da celulase total (GHOSE, 1987), utilizou-se papel filtro como substrato. Uma unidade de atividade enzimática foi definida como a quantidade de enzima necessária para liberar 1 μ mol de substrato, por minuto. Nesta metodologia 0,5 mL da enzima foram adicionados a 1 mL de tampão citrato (0,05 M) e pH 4,8, e também a um pedaço de papel filtro, medindo 1x6 cm (aproximadamente 50 mg) utilizado como substrato, em um tubo de ensaio. Este tubo permaneceu em banho-maria a 50 °C por 60 minutos. Após este tempo, 3 mL da solução do reagente DNS foram adicionados ao tubo de ensaio, que foi então levado à um banho de ebulição por 5 minutos. Após um banho de gelo para esfriar esta reação, 20 ml de água destilada foram adicionados no tubo, e após agitação, a solução foi lida em espectrofotômetro a 540 nm. Os dados foram analisados comparando-se os resultados obtidos com uma curva padrão de glicose,

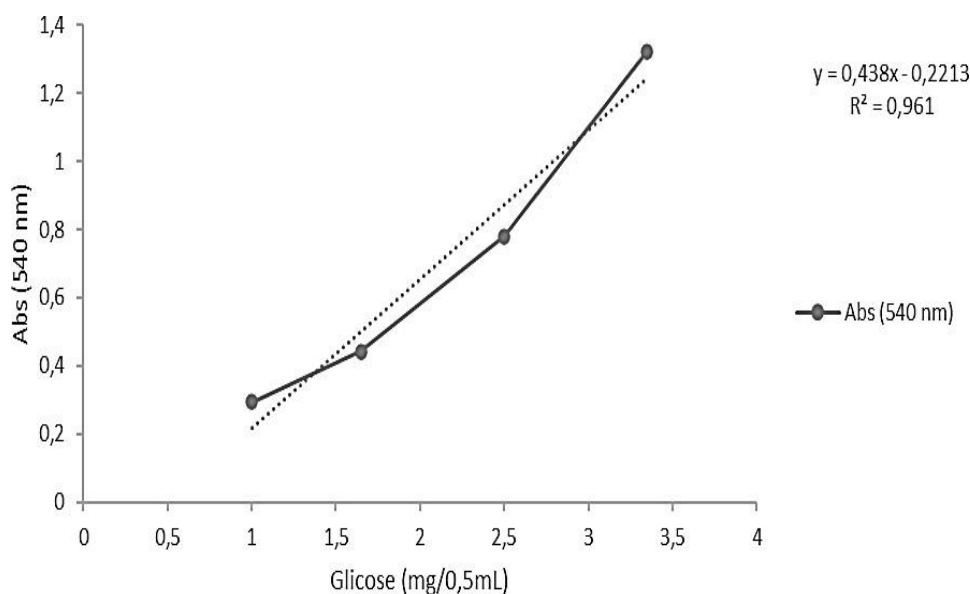
construída com a mesma metodologia. Além disso foram realizados tubos para brancos da enzima e branco do substrato, para retirar as possíveis interferências de açúcares presentes em ambos.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a avaliação enzimática da celulase, pelo fungo *Trichoderma Reesei*, foram crescidos em meio de palha de trigo em cultivo submerso.

Para a análise da atividade enzimática, seguindo o protocolo de Ghose (1987), foi utilizado uma curva padrão de glicose (10 g/L), nas concentrações de: 3,35, 2,5, 1,65 e 1 g/L, que proporcionou a construção de um gráfico de absorvância (abs) x concentração de glicose (g/L) (FIGURA 3). Foi feito o cálculo do R^2 , coeficiente para avaliar a distribuição dos dados, que apresentou o resultado de 0,96, sendo assim, foi utilizado a equação da reta para analisar os dados da produção da enzima celulase.

FIGURA 3: GRÁFICO ABS (nm) X GLICOSE (mg/0,5 mL) USADO COMO CURVA PADRÃO PARA A DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA TOTAL DA CELULASE.

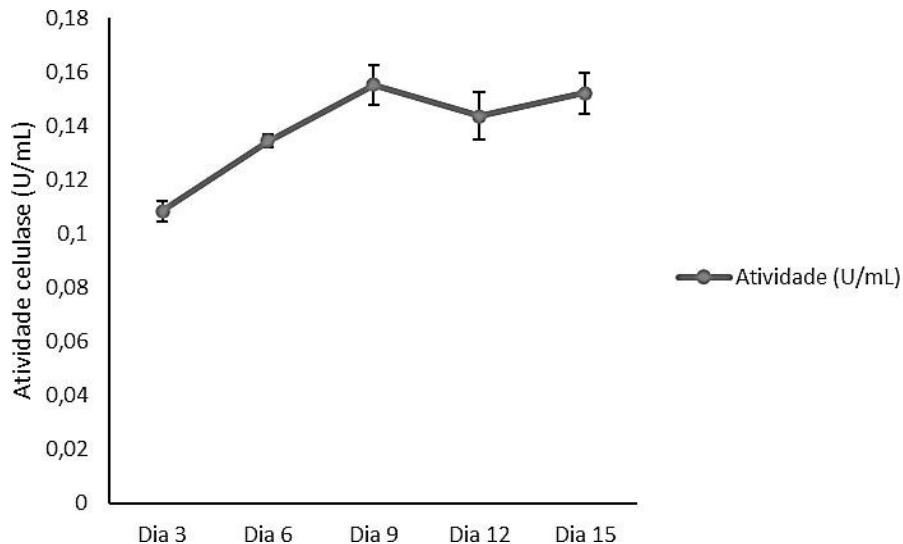


Na FIGURA 4 podemos observar a produção da celulase total durante os 15 dias de cultivo, sendo as amostras coletadas a cada 48 horas. Durante os 15 dias de cultivo houve um pico de produção no 9º dia de cultivo, significando o melhor dia de atividade enzimática do microrganismo, embora 12º dia houve uma queda da atividade, aparentemente se manteve até o 15º dia, se não fosse pela queda de pico no 12º dia, que

poderia ser estudado novamente para averiguação se realmente aconteceu essa diminuição da atividade enzimática. Nos primeiros dias de cultivo a atividade é baixa devido a adaptação do microrganismo ao meio e condições de cultivo.

De acordo com o trabalho da Naher et al. (2021) , foram isolados os fungos *Trichoderma reesei* UMK04 e *Aspergillus awamori* UMK02 de folhas de plantas daninhas, os fungos com uma densa população de conídios trabalham mais rapidamente na degradação da celulose como o *T. reesei*, para a produção da enzima celulase. Para este estudo, foi utilizado fermentação submersa de palha de arroz, para a produção de celulase, esta pesquisa foi feita para fazer a comparação de produção de celulase entre estes dois fungos. Para os resultados, o *T. reesei*, apresentou maior produção do que *A. awamori* em 5 dias de cultivo (27,4 U/ mg de peso seco), isso acontece devido sua capacidade de crescimento a uma alta densidade da população de conídios, tornando o *T. reesei* mais eficaz ou mais rápido na degradação da celulose.

FIGURA 4 - PRODUÇÃO DE ENZIMA CELULASE (U/mL) PELO FUNGO *Trichoderma* sp. UTILIZANDO PALHA DE TRIGO COMO SUBSTRATO, 28 °C, 180 RPM, DURANTE 15 DIAS DE CULTIVO.



Comparando-se com estudos realizados por Silva (2014), que utilizaram palha de trigo como substrato e os fungos *Trichoderma* e *Aspergillus sydowii*, usando palha de trigo em meio rico em minerais em fermentação submersa (FS), os autores obtiveram valor máximo de 40 IU/mL quando cultivou *A. sydowii* (SBS45) em meio líquido rico em minerais por 7 dias. O dobro deste resultado foi observado na FS do que em Fermentação em Estado Sólido (FES), usando palha de trigo para uma linhagem de

Penicillium, a Pen. 5 após cinco dias de cultivo, e Pen. 3 após quatro dias de cultivo, com 84,04 IU/mL e 81,49 IU/mL, respectivamente, seguidos pelos Pen. 1 com 75,83 IU/mL e *Aspergillus Niger* 01 com 49,78 IU/mL, ambos após cinco dias de cultivo, todos eles foram isolados em solução salina (SILVA, 2014).

Fapesb et al. (2013) utilizaram a casca do café como substrato na produção de celulase pelo fungo *Trichoderma* ssp. Foram isolados para a pesquisa os fungos *Trichoderma pseudokoningii* 1052 e *Trichoderma reesei* 1612, os quais obtiveram maiores produção enzimática, com atividade de e CMCase de 0,394 U mL⁻¹ min⁻¹ e 0,358 U mL⁻¹ min⁻¹, respectivamente. Isso acontece por motivo de algumas linhagens fúngicas possuírem não a capacidade de secretar todas as enzimas do complexos celulolíticos (FAPESB et al., 2013)

Segundo Campioni et al. (2020), a produção de xilanases e celulases foi realizada utilizando o fungo *T. reesei* QM9414 e palha de cana-de-açúcar como substrato como a principal fonte de carbono para produção de enzimas fibrolíticas em um bioprocessos simples econômico. A produção da xilanase apresentou em maior quantidade 90 (U/mL) e para celulase total 0,56 U/mL em 288h, além disso, a produção destas enzimas pôde ser ampliada com sucesso de frascos agitados para biorreatores em mesmas condições anteriores (CAMPIONI et al, 2020). O fungo *T. reesei* QM9414 é uma linhagem modificada geneticamente, além disso o estudo relatado contou com uma otimização das condições de cultivo prévia, estes fatos certamente explicam os bons rendimentos de atividade celulolítica total.

Dudek et al. (2020) determinaram a importância da modificação genética na melhora dos resultados de produção de enzimas. Neste estudo que o uso da técnica de super expressão do *gene/1 em T. reesei RUT-C30*, aumentaram significativamente a produção de celulase total. As cepas avaliadas neste trabalho RUT-C30 Δ zface1-1, RUT-C30 Δ zface1-2 e RUT-C30 Δ zface1-3 foram criadas pela deleção parcial do gene repressor da celulase ACE1 na cepa RUT-C30. Assim sendo, as cepas mutantes RUT-C30 Δ zface1, mostram maior poder de hidrólise que a RUT-C30, uma linhagem para ser estudada mais a fundo na busca pela otimização da celulase por *T. reesei*.

Uma possível explicação para o baixo rendimento da atividade enzimática também se deve à utilização da palha de trigo *in natura*, sem nenhum pré-tratamento prévio. Diferentes metodologias de pré-tratamento existem e podem ser classificadas como: pré-tratamentos físicos, químicos, biológicos ou uma combinação destes (FACUNDES, 2014). A eficácia do pré-tratamento depende da estrutura física e composição da biomassa e das condições de tratamento.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A proposta da utilização da palha de trigo e do fungo *Trichoderma sp.*, em um meio de cultivo previamente estudado, foi suficiente para a produção de celulases totais em nove dias de cultivo. Mesmo sem o conhecimento da espécie do fungo utilizado o gênero *Trichoderma spp.* mostrou-se um fungo lignocelulolítico. A produção das enzimas aconteceu, embora em valores menores do que a literatura traz. Como se trata de um estudo inicial, bem como que não foi realizado um pré-tratamento agressivo na palha de trigo, estudos posteriores podem melhorar os resultados obtidos.

7.1 RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Espera-se realizar a identificação molecular do fungo *Trichoderma sp.* para ter o conhecimento mais amplo da espécie em questão, e com esta informação poderemos traçar metodologias de otimização da produção de celulases bem como outras enzimas lignocelulolíticas. Metodologias de pré-tratamento químicos, físicos e biológicos poderão ser empregadas para ajudar a aumentar a produção de celulases. A realização de testes de aplicação da enzima, bem como estudos da sua caracterização e cinética são interessantes para o fechamento deste estudo.

REFERÊNCIAS

ALENCAR, Viviane do Nascimento e Silva; BATISTA, Juanize Matias da Silva; NASCIMENTO, Thiago Pajeú; CUNHA, Marcia Nieves Carneiro da; LEITE, AnaCristina Lima. RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS: uma alternativa promissora e sustentável na produção de enzimas por microrganismos. **Ciência, Tecnologia e Inovação: do campo à mesa**, [S.L.], p. 1-16, 27 set. 2020. Instituto internacional Despertando Vocações. <http://dx.doi.org/10.31692/iciagro.2020.0478>. Disponível em: <https://ciagro.institutoidv.org/ciagro/uploads/1753.pdf>. Acesso em: 25 nov. 2022.

ALMEIDA, M. C. O. Indução de celulasas e xilanases por *Trichoderma reesei* e *Penicillium variable* em cultivo em estado sólido a partir de substratos lignocelulósicos. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química 2012. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/100563/314953.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

ALTERNATIVAS: uma solução viável? **Agroenergia em Revista**, [s. l.], v. 2, n. 3, p. 64-67, jan. 2013. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1048421/1/AgroenergiaEmRevistaed0966692015.pdf>. Acesso em: 29 jan. 2023.

AGROINDUSTRIAIS PARA PRODUÇÃO DE TANASE POR *ASPERGILLUS SP* ISOLADO DO SOLO DA CAATINGA DE PERNAMBUCO, Brasil. **Revista E-Xacta**, [s. l.], v.7, n.1, p.19,31 maio 2014. Disponível em: <https://unibh.emnuvens.com.br/dcet/article/view/1146#:~:text=os%20rejeitos%20agroindustriais%2C%20principalmente%20os%20da%20ind%C3%BAstria%20de,na%20formula%C3%A7%C3%A3o%20de%20meios%20para%20produ%C3%A7%C3%A3o%20de%20enzimas>. Acesso em: 19 nov. 2022.

AMBIENTE, Ministério do Meio. **Resíduos Agrossilvopastoris**. Brasília: Bid, 2022. Sinir. Disponível em: <https://sinir.gov.br/informacoes/tipos-de-residuos/residuos-agrossilvopastoris/>. Acesso em: 25 nov. 2022.

BALDONI, Daiana Bortoluzzi. **Prospecção de fungos quitinolíticos e produção de quitinases por fermentação em estado sólido**. 2016. 84 f. Tese (Doutorado) - Cursode Ciência do Solo, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2016. Disponível em: <https://repositorio.ufsm.br/handle/1/3378>. Acesso em: 13 nov. 2022.

BINOD, P. et al. Hydrolysis of cellulosic and hemicellulosic biomass. In: **Biofuels: Alternative Feedstocks and Conversion Processes for the Production of Liquid and Gaseous Biofuels**. Academic Press, p. 447-460, 2019.

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

CAMPIONI, Tania Sila; CARVALHO, Ana Flávia de Azevedo; FIGUEIREDO, Franciane Cristina de; SILVA, Douglas Fernandes da; OLIVA NETO, Pedro de. Xylanases and cellulases biosynthesis by selected fungi in a simple and economic bio system using sugarcane straw. **International Journal Of Environment, Agriculture And**

Biotechnology, [S.L.], v. 5, n. 1, p. 217-230, 2020. AI Publications. <http://dx.doi.org/10.22161/ijeab.51.31>.

CUNHA, Renato. **Celulose extraída das palhas de trigo e cana-de-açúcar viram produtos de papel**. 2021. Disponível em: <https://www.stylourbano.com.br/celulose-extraída-das-palhas-de-trigo-e-cana-de-acucar-viram-produtos-de-papel/#:~:text=A%20Columbia%20Pulp%20%C3%A9%20a%20primeira%20f%C3%A1brica%20de,o%20excesso%20de%20palha%20da%20colheita%20%C3%A9%20queimado..> Acesso em: 28 jan. 2023.

CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. **Mercado impulsiona produção de trigo que atinge novo recorde com mais de 9 milhões de toneladas**. 2022. Disponível em: [https://www.conab.gov.br/ultimas-noticias/4850-mercado-impulsiona-producao-de-trigo-que-atinge-novo-recorde-com-mais-de-9-milhoes-de-toneladas#:~:text=A%20produ%C3%A7%C3%A3o%20de%20trigo%20em,Nacional%20de%20Abastecimento%20\(Conab\)](https://www.conab.gov.br/ultimas-noticias/4850-mercado-impulsiona-producao-de-trigo-que-atinge-novo-recorde-com-mais-de-9-milhoes-de-toneladas#:~:text=A%20produ%C3%A7%C3%A3o%20de%20trigo%20em,Nacional%20de%20Abastecimento%20(Conab)). Acesso em: 04 fev. 2023.

Delabona PS, Pirota RDPB, Pinto GAS, Farinas CS. **Produção de celulases e xilanases Por duas linhagens de Trichoderma visando a aplicação na produção de etanol celulósico**. Congresso Internacional de Bioenergia, Congresso Brasileiro de Geração distribuída e Energias renováveis, 2009. Disponível em: <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/handle/doc/428142>.

DE LIMA, A. L. G. et al. Streptomyces drozdowiczii cellulase production using agro-industrial by-products and its potential use in the detergent and textile industries. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 37, n. 2, p. 272-277, 2005.

DUDEK, Débora Nakadomari *et al.* Enhance of Cellulase Production and Biomass Degradation by Transformation of the Trichoderma reesei RUT-C30Δzface1 Strain. **Brazilian Archives Of Biology And Technology**, [S.L.], v. 63, p. 1-12, 15 maio 2020. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4324-2020190185>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/babt/a/3p679rMTqHWBbpLm399MTzJ/?lang=en>. Acesso em: 23 fev. 2023.

DESCOMPLICADO, Tcc. **10 Exemplos de Epígrafe para Utilizar no TCC + Modelo Pronto**. 2023. Disponível em: <https://tccdescomplicado.com.br/10-exemplos-de-epigrafe-para-utilizar-no-tcc-modelo-pronto/>. Acesso em: 08 fev. 2023.

FAPESB, Trabalho Financiado Pela Fundação de Amparo À Pesquisa do Estado da Bahia – *et al.* **Utilização de Casca de café como substrato para produção de celulase por Trichoderma spp.** 2013. Disponível em: http://tot.dti.ufv.br/bitstream/handle/123456789/3767/231_VIII-SPCB-2013.pdf. Acesso em: 06 fev. 2023.

FACUNDES, B. C. **Fungos filamentosos produtores de holocelulases prospectados em mata de galeria do cerrado tocantinense**. Universidade Federal do Tocantins, 2014.

FOLHA, Palotina: Folha de Palotina, 28 nov. 2021. Disponível em: <https://folhadepalotina.com.br/destaque/colheita-de-soja-se-intensifica-em-palotina/#:~:text=Em%20Palotina%20est%C3%A3o%20sendo%20cultivados%20mais>

%20de%2045,Secretaria%20de%20Estado%20da%20Agricultura%20e%20do%20Abastecimento. Acesso em: 24 nov. 2022.

GLOBO RURAL. Palotina Globo, 07 nov. 2021. Disponível em: <https://globorural.globo.com/Noticias/Agricultura/noticia/2021/10/conab-projeta-recuperacao-e-nova-safra-recorde-de-graos-em-20212022.html>. Acesso em: 24 nov. 2022.

GOLDBERCK, Rosana. **Determinação das propriedades lignocelulolíticas e estudo genético de micro-organismos silvestres isolados de diversas regiões brasileiras visando a produção de bioetanol.** 2012. 176 f, p. 41-44. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2012. Disponível em: <https://1library.org/document/q5ojdjz-determinacao-propriedades-lignoceluloliticas-brasileiras-determination-lignocellulolytic-microorganisms-bioethanol.html>. Acesso em: 14 nov. 2022.

HANSEN, G. H. et al. Production of cellulolytic enzymes from ascomycetes: Comparison of solid state and submerged fermentation. **Process Biochemistry**, v. 50, p. 1327–1341, 2015.

SINDHU, R.; BINOD, P.; PANDEY, A. Biological pretreatment of lignocellulosic biomass – An overview. **Bioresource Technology**, v. 199, p. 76–82, 2016.

LIMA, Janaina de Souza. **Imobilização de celulase em caulim e sua Aplicação em processo de acabamento têxtil.** 2020. 105 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia Química, Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2020. Disponível em: <https://1library.org/document/qvx43rry-janaina-de-souza-lima.html>. Acesso em: 19 nov. 2022.

MARKET, Brain. **Potencial de biomassa de resíduos agroindustriais no Brasil.** 2022. Inteligência de Mercado. Disponível em: <http://www.brainmarket.com.br/2022/09/06/potencial-de-biomassa-de-residuos-agroindustriais-no-brasil/>. Acesso em: 18 nov. 2022.

MARTINS, I. M. N. B. R. **Produção e caracterização de celulases e hemicelulases obtidas por cultivo de fungos mesófilos em resíduos agroindustriais.** 29 f. Tese para conclusão de curso. Graduação em Engenharia Ambiental. Uberlândia – UFU, 2019.

NASCIMENTO, Katarina Botelho de Melo *et al.* **UTILIZAÇÃO DE RESÍDUOS**

NAHER, Laila *et al.* Cellulase Enzyme Production from Filamentous Fungi *Trichoderma reesei* and *Aspergillus awamori* in Submerged Fermentation with Rice Straw. **Journal Of Fungi**, [S.L.], v. 7, n. 10, p. 868, 16 out. 2021. MDPI AG.

<http://dx.doi.org/10.3390/jof7100868>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8539901/>. Acesso em: 23 fev. 2023.

NOVOZYMES. **Biologia:** as enzimas e os microrganismos encontrados na natureza tornam os produtos cotidianos mais sustentáveis. As enzimas e os microrganismos encontrados na natureza tornam os produtos cotidianos mais sustentáveis. 2020. Disponível em: <https://www.novozymes.com/pt/biology>. Acesso em: 13 nov. 2022.

VIII SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 2013, Salvador.

Utilização de casca de café como substrato para produção de celulase por *Trichoderma* spp. Salvador: Researchgate, 2013. 4p. Disponível em: http://tot.dti.ufv.br/bitstream/handle/123456789/3767/231_VIII-SPCB-2013.pdf Acesso em: 22 nov. 2022.

WEI, H., XU, Q., TAYLOR, L. E. et al. Natural paradigms of plant cell wall degradation. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 20, n. 3, p. 330-338, 2009.

WILSON, D. B. Three microbial strategies for plant cell wall degradation. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1125, n. 1, p. 289-297, 2008.

REIS, Jhonathan Raimundo et al. Cultivo do *Trichoderma* spp. para Produção das Enzimas Celulases e Xilanases em Bagaço de Malte. In: VII SIMPÓSIO DE BIOQUÍMICA E BIOTECNOLOGIA, 2019, Londrina. **Anais eletrônicos...** Campinas, Galoá, 2019. Disponível em: <<https://proceedings.science/simbbtec-2019/papers/cultivo-do-trichoderma-spp--para-produção-das-enzimas-celulases-e-xilanase-em-bagaço-de-malte>> Acesso em: 23 nov. 2022.

SALDARRIAGA-HERNÁNDEZ, S. et al. Biotransformation of lignocellulosic biomass into industrially relevant products with the aid of fungi-derived lignocellulolytic enzymes. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 161, p. 1099-1116, 2020.

SANDHU, S. K. et al. Cellulosic biomass-hydrolyzing enzymes. In: _____. **Waste to Wealth**. Springer: Singapore, p. 441-456, 2018.

SCHNEIDER, Vania Elisabete *et al.* **Diagnóstico dos Resíduos Orgânicos do Setor Agrossilvopastoril e Agroindústrias Associadas**. Brasília: © Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada, 2012. 134 p. Disponível em: https://repositorio.ipea.gov.br/bitstream/11058/7687/1/RP_Diagn%C3%B3stico_2012.pdf f. Acesso em: 04 fev. 2023.

SIMÕES, Maria Lúcia Garcia. **Controle biológico de *Moniliophthora perniciosa*, agente causal da vassoura de bruxa do cacaueteiro, por diferentes espécies e linhagens de *Trichoderma* spp.** 2010. 220 f, p. 52-59.

Tese (Doutorado) - Curso de Ciências Biológicas, Microbiologia Aplicada, Universidade Estadual Paulista Júlio de SOUZA, Daniela Tatiane de. **CELULOSE PROVENIENTE DE FIBRAS**

SILVA, Adriana da Silva e. **Avaliação da produção de celulases e xilanase pela degradação de resíduos agrícolas regionais por fungos da Amazônia.** 2014. 105 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química, Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal do Amazona, 2014, 2014. Disponível em: <https://tede.ufam.edu.br/bitstream/tede/5212/5/Disserta%C3%A7%C3%A3o%20de%20Mestrado%20-%20Adriana%20da%20Silva%20e%20Silva.pdf>. Acesso em: 06 fev. 2023.

TECNOLOGIA NO CAMPO, Priscila. ***Trichoderma*: tudo sobre o fungo que ajuda no controle biológico de doenças.** 2020. Stage. Disponível em: <https://tecnologianocampo.com.br/trichoderma/#:~:text=Trichoderma%20%C3%A9%20um%20g%C3%AAnero%20de%20fungos%20de%20caracter%C3%ADstica,solos%20d>

e%20regi%C3%B5es%20de%20clima%20temperado%20e%20tropical.Acesso em: 11 nov. 2022.