



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE TECNOLOGIA E DESENVOLVIMENTO REGIONAL
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA SUCROALCOOLEIRA



MIKAEL ÂNGELO MARTINS DE SOUZA

APLICAÇÃO DE AMILASES DE *Aspergillus* sp. FSDE16 NA HIDRÓLISE ENZIMÁTICA
DO BAGAÇO DE MALTE PARA OBTENÇÃO DE AÇÚCARES E COMPOSTOS
FENÓLICOS

JOÃO PESSOA

2025

MIKAEL ÂNGELO MARTINS DE SOUZA

APLICAÇÃO DE AMILASES DE *Aspergillus* sp. FSDE16 NA HIDRÓLISE ENZIMÁTICA
DO BAGAÇO DE MALTE PARA OBTENÇÃO DE AÇÚCARES E COMPOSTOS
FENÓLICOS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Departamento de Tecnologia Sucroalcooleira da
Universidade Federal da Paraíba como parte dos
requisitos para obtenção do título de Tecnólogo em
Produção Sucroalcooleira.

Orientadora: Prof.^a. Dr.^a. Laís Campos Teixeira de
Carvalho Gonçalves

JOÃO PESSOA

2025

Autorização de publicação

Catálogo de Publicação na Fonte. UFPB - Biblioteca Setorial do CTDR

S729a Souza, Mikael Angelo Martins de.

Aplicação de amilases de *Aspergillus* sp. FSDE16 na hidrólise enzimática do bagaço de malte para obtenção de açúcares e compostos fenólicos / Mikael Angelo Martins de Souza. - João Pessoa, 2025.

36 f. : il.

Orientação: Laís Campos Teixeira de Carvalho Gonçalves.

TCC (Graduação) - UFPB/CTDR.

1. Hidrólise enzimática. 2. Compostos fenólicos. 3. Açúcares. I. Gonçalves, Laís Campos Teixeira de Carvalho. II. Título.

UFPB/CTDR

CDU 663.15

Elaborado por Rodrigo Araújo de Sá Pereira - CRB-755/0

JOÃO PESSOA

2025

MIKAEL ÂNGELO MARTINS DE SOUZA

APLICAÇÃO DE AMILASES DE *Aspergillus* sp. FSDE16 NA HIDRÓLISE ENZIMÁTICA
DO BAGAÇO DE MALTE PARA OBTENÇÃO DE AÇÚCARES E COMPOSTOS
FENÓLICOS

Aprovado em.24/09/2025

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 LAIS CAMPOS TEIXEIRA DE CARVALHO GONCAL'
Data: 01/10/2025 14:53:42-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dra. Laís Campos Teixeira de Carvalho Gonçalves

Orientador – UFPB



Prof.ª. Dr.ª. Márcia Aparecida Cezar

Examinadora - UFPB

Documento assinado digitalmente
 ANGELA LIMA MENESES DE QUEIROZ
Data: 02/10/2025 14:10:53-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dra. Angela Lima Menezes de Queiroz

Examinadora - UFPB

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente a minha família que nunca deixou que me faltasse nada, em específico a minha mãe Georgia Cristiane Martins Da Silva que sempre apoiou que continua-se no curso, a meu pai Flavio Barbosa de Souza que nunca mediu esforços para conseguir oportunidades para o filho.

Agradeço também a todos amigos que estiveram nessa caminhada acadêmica, alguns que nos deixaram cedo demais, em especial ao meu grupo que se manteve do início ao final do curso, Vanessa Helena Oliveira dos Santos, Tatiany Gonçalves Lisboa e Heloísa Marinho.

Agradeço à minha orientadora Laís Campos Teixeira De Carvalho Gonçalves, que abriu portas ao mundo acadêmico assim como da extensão sempre instruindo de forma leve e compreensiva buscando formas de melhorar um pouco a cada dia, além do vasto conhecimento passado na área laboratorial, e a oportunidade de ser pesquisador.

Agradeço a um grupo seleto de professores por sua excelência no ensino, dentre elas Márcia Helena Pontieri que aprofundou meus conhecimentos laboratoriais sempre com seu inestimável carisma, a Márcia Aparecida Cezar criadora do cultivo limpo a extensão que me levou a conhecer diversas pessoas, lugares e culturas.

Em especial a todos técnicos do CTDR sempre dispostos a ajudar e ensinar em qualquer necessidade, dentre eles Diego De Araujo Batista que devo a todos preparos de substâncias químicas, além de todos conhecimentos práticos passados que só podem ser obtidos com o tempo.

EPÍGRAFE

" O que é o homem?
Uma miserável pilha de
segredos..."

(Dracula, Castlevania: Symphony of the Night)

SOUZA, Mikael Angelo Martins. **APLICAÇÃO DE AMILASES DE *Aspergillus* sp. FSDE16 NA HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DO BAGAÇO DE MALTE PARA OBTENÇÃO DE AÇÚCARES E COMPOSTOS FENÓLICOS**, 2025. Trabalho

de

conclusão de curso [Graduação em Tecnologia em Produção Sucroalcooleira], Universidade Federal da Paraíba – UFPB.

RESUMO

As amilases são enzimas amplamente utilizadas na indústria devido à sua capacidade de catalisar a hidrólise de amido, convertendo-o em açúcares menores, como glicose e maltose. Elas representam cerca de 30% do mercado global de enzimas, sendo aplicadas em setores como biocombustíveis, alimentos e detergentes. A utilização de amilases como biocatalisadores oferece vantagens como alta especificidade, menor impacto ambiental e promoção da bioeconomia, substituindo catalisadores químicos que demandam condições extremas e geram subprodutos indesejáveis. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial das amilases produzidas pelo fungo *Aspergillus* sp. FSDE16 na fermentação sólida da casca de mandioca e analisar o potencial das enzimas na hidrólise enzimática do bagaço de malte, visando a obtenção de açúcares e compostos fenólicos. A produção das amilases foi realizada por fermentação sólida utilizando casca de mandioca como substrato, com 50% de umidade. Após 168 horas de fermentação, foi obtida uma atividade enzimática de 23,4 g/L. O coquetel enzimático produzido, contendo amilases, foi utilizado para hidrolisar o bagaço de malte, resultando em um aumento de 40% na concentração de açúcares redutores e de 67% no °Brix, após 96 horas de reação. Nesse processo, foi observada a redução do pH de 4,66 para 3,91. Além disso, houve uma redução de 28% na massa do bagaço de malte, indicando a eficiência das enzimas na quebra da biomassa. A análise dos compostos fenólicos revelou um aumento significativo, passando de 30 µg/mL no tempo 0 para 80 µg/mL no tempo de 96h. Os resultados demonstram o potencial biotecnológico das amilases de *Aspergillus* sp. FSDE16 na valorização de resíduos agroindustriais, a partir do aumento de açúcares e compostos fenólicos liberados que podem ser utilizados na indústria de alimentos, na produção de bioativos com propriedades antioxidantes, em nutrição animal ou como matéria-prima para processos industriais sustentáveis, promovendo o aproveitamento de subprodutos e contribuindo para economia circular.

PALAVRAS-CHAVE: Hidrólise enzimática - Compostos fenólicos - Açúcares

SOUZA, Mikael Angelo Martins, **APPLICATION OF AMYLASES FROM *Aspergillus* sp. FSDE16 IN THE ENZYMATIC HYDROLYSIS OF MALT BAGASSE TO OBTAIN SUGARS AND PHENOLIC COMPOUNDS**, 2024.

Trabalho de conclusão de curso [Graduação em Tecnologia em Produção Sucroalcooleira], Universidade Federal da Paraíba – UFPB.

ABSTRACT

Amylases are enzymes widely used in the industry due to their ability to catalyze the hydrolysis of starch, converting it into smaller sugars like glucose and maltose. They represent about 30% of the global enzyme market, with applications in sectors such as biofuels, food, and detergents. The use of amylases as biocatalysts offers advantages such as high specificity, lower environmental impact, and promotion of the bioeconomy, as they replace chemical catalysts that require extreme conditions and generate undesirable byproducts. The objective of the present study was to evaluate the potential of amylases produced by the fungus *Aspergillus* sp. FSDE16 in the solid-state fermentation of cassava peels and to analyze the enzymes' potential in the enzymatic hydrolysis of malt bagasse, aiming to obtain sugars and phenolic compounds. Amylase production was carried out through solid-state fermentation using cassava peels as a substrate, with 50% moisture content. After 168 hours of fermentation, an enzymatic activity of 23.4 g/L was obtained. The produced enzyme cocktail, containing amylases, was used to hydrolyze malt bagasse, resulting in a 40% increase in the concentration of reducing sugars and a 67% increase in °Brix after 96 hours of reaction. During this process, a reduction in pH from 4.66 to 3.91 was observed. Furthermore, there was a 28% reduction in the mass of the malt bagasse, indicating the enzymes' efficiency in breaking down the biomass. The analysis of phenolic compounds revealed a significant increase, from 30 µg/mL at time 0 to 80 µg/mL at the 96-hour mark. The results demonstrate the biotechnological potential of amylases from *Aspergillus* sp. FSDE16 in the valorization of agro-industrial waste by increasing the release of sugars and phenolic compounds. These can be used in the food industry, for the production of bioactives with antioxidant properties, in animal

nutrition, or as raw material for sustainable industrial processes, promoting the use of byproducts and contributing to the circular economy.

KEYWORDS: Enzymatic hydrolysis - Phenolic compounds - Sugars

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1** - Casca de mandioca cortada e encaminhada para secagem em estufa (a) e casca de mandioca, após moagem e peneiramento (b). 20
- Figura 2** - Casca de mandioca (a), fermentação sólida da casca de mandioca pelo fungo (b) e obtenção do sobrenadante contendo as amilases (c). 21
- Figura 3** - Curva padrão de glicose para análise dos açúcares redutores (ARs). 23
- Figura 4** - Atividade de alfa-amilases após fermentação sólida da casca de mandioca por *Aspergillus* sp. FSDE16... 25
- Figura 5** - Hidrólise enzimática do bagaço de malte nos tempos 0 (a) e 96h (b). 26
- Figura 6** - Hidrólise enzimática do bagaço de malte e análise dos AR e °Brix durante 96h de reação... 27
- Figura 7** - Comparação entre a massa do bagaço de malte e os AR nos tempos 0 e após 96h de hidrólise enzimática... 27
- Figura 8** - Análise (a) dos compostos fenólicos presentes nas amostras antes e após a hidrólise enzimática 0 e 96h... 28

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. OBJETIVOS	13
2.1.1 Objetivo geral	13
2.1.2 Objetivos específicos	14
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	15
3.1 Amilases	15
3.2 Fermentação sólida de biomassa por fungos	16
3.3 Casca de mandioca	17
3.4 Bagaço de malte	18
3.5 Hidrólise enzimática de biomassa	18
3.6 Compostos Fenólicos	19
4. METODOLOGIA	20
4.1 Fermentação sólida da casca de mandioca por <i>Aspergillus</i> sp. FSDE16	20
4.2 Atividade de alfa-amilases	22
4.3 Hidrólise enzimática do bagaço de malte	22
4.3.1 Bagaço de malte	23
4.3.2 Hidrólise enzimática	23
4.4 Análise da massa do bagaço de malte após a hidrólise	24
4.5 Avaliação de compostos fenólicos nas amostras	24
5. RESULTADOS	25
6. CONCLUSÃO	29
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	29

1. INTRODUÇÃO

O crescimento exponencial da industrialização global, embora fundamental para o desenvolvimento econômico e social, tem gerado um desafio ambiental crítico à gestão inadequada de resíduos industriais. Esses resíduos, que podem variar de subprodutos sólidos a efluentes líquidos e gases tóxicos, representam uma ameaça significativa aos ecossistemas, à saúde pública e à sustentabilidade dos recursos naturais (MISHRA & KUMAR, 2021; FURLANETTO *et al.*, 2018).

Atualmente, grande parte das indústrias ativas brasileiras já aplicam iniciativas da economia circular, a partir do conceito de biorrefinaria, com a conversão de biomassa em produtos de alto valor agregado (Artola *et al.*, 2024; Chaves, 2021). Porém, para indústrias de pequeno e médio porte, a economia linear se mantém predominante, havendo grande desperdício de resíduos, que geralmente são descartados, assim como em mercados ou feiras.

Na indústria cervejeira, o bagaço de malte representa cerca de 85% do total de resíduos gerados durante a produção de cerveja. Seu principal destino é como ingrediente de ração animal, sendo o excedente destinado a aterros sanitários, alternativa sem retorno econômico e que causa impactos ambientais (Silva *et al.* 2024). Como cerca de 70% do bagaço de malte é composto por fibras, ele é considerado um material lignocelulósico, apresentando celulose (28,4%), hemicelulose (32,6%), lignina (26%) e cinzas (2,5%) em sua composição, além de cerca de 15% de proteínas (MENDES *et al.*, 2020). Devido à sua disponibilidade e composição, ele tem potencial para ser explorado para diversos fins, inclusive na produção de etanol, a partir da sua hidrólise por enzimas como amilases e celulasas e fermentação dos açúcares liberados (ARTIFON *et al.*, 2020).

Além do bagaço de malte, a casca de mandioca é outro resíduo agroindustrial com grande potencial biotecnológico. No seu processamento, suas raízes são descascadas, gerando cascas que correspondem a 20–35% do peso do tubérculo. Essas cascas representam um problema ambiental que tende a crescer com o aumento da produção de derivados da mandioca. No entanto, por constituírem cerca de 10% do peso úmido da raiz, podem se tornar um recurso valioso se aproveitadas por meio de biotecnologia, como na produção de enzimas (ANIGBORO *et al.*, 2023).

A produção de enzimas do tipo amilases, por meio de fungos, é um dos pilares da biotecnologia industrial, impulsionando inovações em diversos setores, como a indústria alimentícia, de biocombustíveis e de detergentes. As amilases são um grupo de enzimas com a notável capacidade de catalisar a hidrólise de amido, convertendo-o em açúcares de menor peso molecular, como a glicose e a maltose (SURYAWANSHI RK, *et al*, 2019).

Por meio de um processo denominado hidrólise enzimática, as amilases podem catalisar a quebra de biomassa rica em amido com a liberação de açúcares mais simples, como a glicose e a maltose. E a glicose liberada deste processo pode vir a ser convertida, entre outros, em etanol de segunda geração. Assim, a escolha da hidrólise enzimática para quebra da biomassa é considerada uma alternativa mais limpa e sustentável, comparada aos métodos de hidrólise química, que, em geral, geram muitos subprodutos indesejáveis (TURINI *et al*, 2021). Além disso, conforme apresentado por Kim *et al* (2006), a hidrólise da biomassa pode ser favorável à conversão de fenólicos ligados em compostos fenólicos livres, melhorando sua liberação e biodisponibilidade.

A eficiência da hidrólise depende de diversos fatores, como o tipo de pré-tratamento da biomassa, as condições operacionais (pH, temperatura, tempo de reação) e a atividade das enzimas utilizadas. Nesta perspectiva, o objetivo deste estudo foi promover a hidrólise do bagaço de malte com amilases produzidas por *Aspergillus* sp. FSDE16 em fermentação sólida da casca de mandioca e avaliar o potencial enzimático na liberação de açúcares e compostos fenólicos.

2. OBJETIVOS

2.1.1 Objetivo geral

Promover a hidrólise do bagaço de malte com amilases produzidas por *Aspergillus* sp. FSDE16 em fermentação sólida com casca de mandioca e avaliar o potencial das amilases na liberação de açúcares e compostos fenólicos.



2.1.2 Objetivos específicos

- Realizar a fermentação sólida de casca de mandioca pelo fungo *Aspergillus* sp. FSDE16;
- Promover a hidrólise enzimática do bagaço de malte;
- Avaliar a atividade de alfa-amilases;
- Efetuar avaliação do pH, dos açúcares redutores, da massa do bagaço de malte e do °Brix, antes e após a hidrólise enzimática;
- Analisar compostos fenólicos.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Amilases

A utilização de enzimas, catalisadores biológicos de natureza proteica, tem se consolidado como uma abordagem fundamental para a otimização de diversos processos industriais. Sua relevância reside na capacidade de acelerar reações químicas com alta especificidade e eficiência, atuando sob condições reacionais brandas, como pH e temperatura moderados (CARLOS *et al.*, 2022). Essa característica as diferencia dos catalisadores químicos tradicionais, que frequentemente exigem condições extremas e geram subprodutos indesejados (CASPETA *et al.*, 2018).

O crescente interesse pela utilização de enzimas em larga escala está intrinsecamente ligado aos princípios da química verde, um paradigma que busca o desenvolvimento de processos mais seguros e ecologicamente corretos (Woodley, 2014). Ao substituir catalisadores químicos por biocatalisadores, a indústria reduz significativamente o consumo de energia, a emissão de resíduos tóxicos e a necessidade de equipamentos caros e complexos (CONTECH BRASIL, 2023).

Entre as enzimas utilizadas na indústria, as amilases possuem uma longa trajetória de sucesso e, atualmente, representam 30% do mercado global de enzimas. Isso ocorre porque as amilases hidrolisam as ligações glicosídicas do amido, liberando glicose, maltose e cadeias curtas de oligossacarídeos (PAUL *et al.*, 2021). O amido é um polissacarídeo constituído por unidades de D-glicose conectadas por ligações glicosídicas, formando amilose e amilopectina. Por ser a principal fonte de carboidrato de reserva no reino vegetal, é amplamente utilizado pela indústria (IUGA; MIRONEASA, 2020; SEUNG, 2020).

O uso de amilases como biocatalisadores do amido oferece diversas vantagens, como alta especificidade, promoção da bioeconomia, menor impacto ambiental e redução da dependência de catalisadores químicos na indústria (ABEDI *et al.*, 2024; SEUNG, 2020; PAUL *et al.*, 2021; MONDAL *et al.*, 2022). Assim, as amilases são aplicadas em vários setores industriais, com destaque para a indústria de biocombustíveis, que tem experimentado um crescimento significativo devido ao

elevado consumo de combustíveis fósseis e seus impactos ambientais (LÄUFER, 2019; MESBAH, 2022; TROIANO *et al.*, 2020). Segundo avaliações do comércio de enzimas, as α -amilases alcançaram um valor de US\$274,1 milhões no mercado global em 2019, com expectativa de crescimento para US\$382,4 milhões até 2025 (MONDAL *et al.*, 2022).

Existem três tipos de amilases: α , β e γ . A α -amilase (EC 3.2.1.1) é uma metaloenzima extracelular que rompe ligações α -1,4-glicosídicas em amido e derivados, formando oligossacarídeos. Não atua nas ligações terminais. Seus produtos incluem maltotriose, glicose, maltose e dextrina. A β -amilase (EC 3.2.1.2) é produzida por bactérias, fungos e plantas, cliva ligações α -1,4 a partir da extremidade não redutora, liberando unidades de maltose. Está relacionada ao sabor adocicado no processo de maturação de sementes. Não ocorre em tecidos animais, mas pode ser encontrada em microrganismos do trato digestivo. Por fim, as γ -amilase (EC 3.2.1.3), também chamadas de glicoamilase, atua principalmente em ligações α -1,6, além das α -1,4 não redutoras, liberando glicose. Funciona melhor em pH ácido (ótimo em pH 3) (ALI *et al.*, 2025).

3.2 Fermentação sólida de biomassa por fungos

A fermentação em estado sólido (FES) é um processo utilizado para a produção de diversos produtos fermentados, como alimentos, rações, enzimas, biocombustíveis e fármacos. Ela envolve o crescimento de microrganismos em um substrato sólido com teor limitado de umidade e esse substrato sólido fornece um ambiente adequado para o crescimento dos microrganismos e a produção dos produtos desejados (EGBUNE *et al.* 2023). A produção de enzimas a partir de fungos filamentosos apresenta vantagens em diversas aplicações biotecnológicas. Eles têm demonstrado capacidade de hidrolisar subprodutos agrícolas de forma eficaz, produzindo produtos de alto valor agregado por meio da fermentação em estado sólido (FES). Além disso, muitos complexos enzimáticos secretados pelos fungos possuem características favoráveis à indústria, como termotolerância e estabilidade em diferentes pHs (MONDAL *et al.*, 2022; MEYER, 2020; TROIANO; DUMONT, 2020).

Os fungos, através de suas enzimas extracelulares, são capazes de degradar complexos polissacarídeos presentes em resíduos agroindustriais, como celulose e hemicelulose, convertendo-os em compostos de maior valor agregado, como proteínas, enzimas ou metabólitos secundários (SODHI *et al.*, 2019; VAN LANEN *et al.*, 2017). A FES, em comparação com a fermentação submersa, oferece vantagens como maior rendimento de produto, menor consumo de água e energia, e a produção de produtos com características físicas mais adequadas para certas aplicações, como rações animais e ingredientes alimentícios (SINGHANIA *et al.*, 2009).

3.3 Casca de mandioca

A mandioca (*Manihot esculenta Crantz*) é uma raiz amilácea de grande importância nos trópicos, cultivada por sua alta produtividade e resistência a solos pobres e condições adversas. Tradicionalmente usada como fonte de carboidratos em alimentos como farinha, amido de tapioca, recentemente tem se destacado como substrato promissor para a fermentação em estado sólido. Suas raízes possuem em média 60–80% de amido (principalmente amilopectina), 2–3% de proteína e até 1,5% de fibras, além de vitaminas e minerais. O elevado teor de amido em subprodutos do seu processamento, como a casca, torna-o ideal para uso em SEF, permitindo que microrganismos a utilizem como fonte de carbono e energia para a produção de enzimas e compostos bioativos (EGBUNE *et al.*, 2023).

A casca de mandioca contém potencial de ser um biocombustível e bioenergia, o processo principal envolve a conversão do amido e das fibras da casca em açúcares simples, geralmente por meio de hidrólise enzimática, um método eficiente para quebrar as cadeias de polissacarídeos (EGBUNE *et al.*, 2023). Uma vez disponíveis, esses açúcares servem como substrato para a fermentação, principalmente realizada por leveduras, que os convertem em bioetanol. Além do etanol, a biomassa da casca pode ser utilizada para produzir biogás, biometano e até bio-hidrogênio, o que oferece uma alternativa de baixo custo e ecologicamente sustentável (UFAL, 2019).

3.4 Bagaço de malte

O processo de produção de cerveja e outras bebidas maltadas gera um subproduto abundante e com grande potencial de valorização: o bagaço de malte. Este resíduo, composto principalmente por cascas, fibras e resquícios de amido, tem sido tradicionalmente subutilizado, sendo frequentemente destinado à ração animal ou encaminhado para aterros (SILVA *et al.*, 2024; RODRIGUES & OLIVEIRA, 2018). No entanto, pesquisas recentes têm demonstrado que o bagaço de malte é rico em diversos compostos de interesse, como fibras dietéticas, proteínas, vitaminas, minerais e compostos fenólicos, abrindo um leque de oportunidades para sua aplicação em diferentes setores industriais (SILVA *et al.*, 2021).

A exploração do bagaço de malte alinha-se perfeitamente com os princípios da economia circular e da bioeconomia, onde resíduos de um processo se tornam matéria-prima para outro, minimizando o desperdício e agregando valor (GEISSLER *et al.*, 2020). A valorização deste resíduo não apenas representa uma oportunidade econômica para as cervejarias, mas também contribui para a redução do impacto ambiental associado ao descarte de grandes volumes de matéria orgânica, como também representa um resíduo agroindustrial com vasto potencial de valorização. Composto predominantemente por cascas de cevada, este material é rico em carboidratos, proteínas, fibras e, notavelmente, em compostos fenólicos e precursores de álcoois, o que o torna um substrato atraente para processos biotecnológicos (PRADO *et al.*, 2021).

3.5 Hidrólise enzimática de biomassa

O processo de hidrólise enzimática é considerado o método mais sustentável para a conversão de biomassa em açúcares fermentescíveis. Diferentemente da hidrólise ácida, que utiliza reagentes corrosivos, ou da hidrólise alcalina, que pode gerar compostos inibidores da fermentação e causar incrustações em tubulações industriais, a hidrólise enzimática opera sob condições suaves de temperatura e pH, proporcionando maior seletividade e reduzida formação de subprodutos tóxicos (KAPARAJU *et al.*, 2010).

Na hidrólise da biomassa, o amido, composto por amilose e amilopectina, é convertido em oligossacarídeos como dextrinas e glicose, após a hidrólise. Enquanto que a celulose gera glicose e celobiose e a hemicelulose produz arabinose, xilose, manose, ramosa, galactose e glicose. Além destes, outros compostos podem ser liberados, dependendo das variáveis utilizadas (carga enzimática, pH, temperatura, quantidade de biomassa) e do tipo de biomassa hidrolisada. (TURINI *et al.* 2021).

3.6 Compostos Fenólicos

Os compostos fenólicos representam uma vasta e importante classe de metabólitos secundários encontrados em plantas, caracterizados pela presença de um ou mais grupos hidroxila (-OH) ligados a um anel aromático (VIANA *et al.*, 2021). Essa estrutura fundamental confere a eles propriedades físico-químicas diversas, influenciando desde a cor e o sabor de alimentos e bebidas até sua notável atividade antioxidante e terapêutica. Eles desempenham papéis cruciais na fisiologia vegetal, atuando como pigmentos, componentes estruturais da parede celular, e como defensores contra patógenos e estresse ambiental, sendo sua extração e quantificação de grande interesse para as indústrias alimentícia, farmacêutica e cosmética (DA SILVA *et al.*, 2020).

O bagaço de malte é uma fonte natural desses compostos, incluindo ácido ferúlico, ácido cumárico e flavonoides, que podem ser extraídos ou liberados através de métodos hidrolíticos ou enzimáticos (RODRIGUES *et al.*, 2018). A extração desses metabólitos secundários não apenas agrega valor ao resíduo, mas também contribui para a redução da dependência de fontes sintéticas, alinhando-se com os princípios da sustentabilidade (CHANDRA *et al.*, 2022).

A avaliação de compostos fenólicos em amostras é essencial para determinar a qualidade nutricional e funcional de extratos vegetais e produtos derivados, sendo as técnicas espectrofotométricas, como o método de Folin-Ciocalteu, amplamente empregadas para estimar o teor total de fenóis devido à sua simplicidade e custo-benefício (VIANA *et al.*, 2021).

4. METODOLOGIA

4.1 Fermentação sólida da casca de mandioca por *Aspergillus* sp. FSDE16

As cascas de mandioca foram obtidas de feiras livres no município de João Pessoa-PB. Em seguida, foram lavadas, cortadas e secadas em estufa convencional, em média de 24 a 72h, até secagem completa. Em seguida, foi realizada a moagem e peneiramento, respectivamente, para obtenção do resíduo em granulometrias de mesh 16, mesh 20, mesh 30, mesh 40 e mesh 50, sendo utilizada a fração da mistura do mesh 20 e 30 para fermentação sólida (Figura 1).

Figura 1 - Casca de mandioca cortada e encaminhada para secagem em estufa (a) e casca de mandioca, após moagem e peneiramento (b).



Fonte: Autoria própria.

O fungo *Aspergillus* sp. FSDE16, que faz parte da coleção de microrganismos do Laboratório de Biotecnologia e Bioprocessos (LABIP – CTDR, UFPB), foi plaqueado em meio PDA (*Potato Dextrose Agar*) e mantido em estufa a 37°C por 7 dias. Em seguida, foram pesados 100 g de casca de mandioca para cada um dos quatro erlenmeyers de 1L. A biomassa foi umedecida com água destilada para apresentar 50% de umidade, conforme a equação 1 abaixo:

Equação 1:

$$m_a = m_r * \frac{u_d - u_r}{1 - u_d}$$

Onde:

m_a = massa de água;

m_r = massa do resíduo;

u_d = umidade desejada;

u_r = umidade do resíduo.

Os meios foram esterilizados em autoclave durante 15 minutos a 121°C (Figura 2 a). Em seguida, foi realizada a inoculação dos esporos na concentração de 10^7 esporos/g, conforme Carvalho-Gonçalves 2017 (Figura 2 b).

Figura 2 - Casca de mandioca (a), fermentação sólida da casca de mandioca pelo fungo (b) e obtenção do sobrenadante contendo as amilases (c).



Fonte: Autoria própria.

Nos tempos de 96h e 168h foi adicionada água destilada na proporção de 1:10 (g/mL) em cada um dos *erlenmeyers* (Figura 2 c). Após mistura com espátula para homogeneizar o meio, ele foi mantido por 1h na bancada, em temperatura ambiente. Em seguida, a amostra foi filtrada em pano de algodão, seguido por filtração em papel de filtro. O sobrenadante foi mantido a -20 °C até a realização da análise de atividade de alfa-amilases.

4.2 Atividade de alfa-amilases

A análise da atividade alfa-amilases foi realizada de acordo com Aleixo Júnior (2018), com adaptações. Em microtubos, adicionou-se 0,25 µL de amido solúvel 1% (m/v) e 0,25 uL de solução tampão citrato de sódio pH 4.8. Em seguida, adicionou-se 0,25 µL do sobrenadante, a mistura foi homogeneizada e a reação ocorreu por 10 minutos à 50°C. Para o branco da amostra, em um microtubo foram adicionados 0,25 uL de tampão citrato, 0,25 uL do sobrenadante do extrato enzimático e 0,5 µL de solução de DNS. O branco do espectrofotômetro foi preparado adicionando 0,5 µL de tampão citrato e 0,5 uL de solução de DNS em um tubo de ensaio. Todas as análises foram feitas em triplicata. A concentração de açúcares redutores foi determinada pelo método do DNS. Fez-se a leitura a 540 nm usando solução de glicose como padrão (MILLER, 1959). O valor da atividade enzimática foi calculado através da Equação 2:

$$Amilase (U/g) = \frac{((A-B) \times f \times d \times V \times R)}{0,18 \times t \times V_e}$$

Onde:

A = absorbância da amostra;

B = absorbância do branco da amostra;

f = fator de conversão da curva de calibração (mg/mL);

d = diluição da amostra;

V = volume total do meio de reação (mL);

0,18 = fator de conversão de miligramas para µmol de glicose; t = tempo de reação (min);

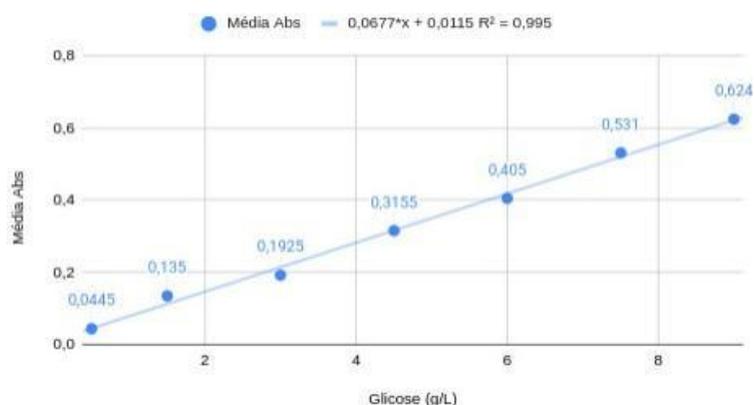
Ve = volume da enzima no meio de reação (mL);

R = razão volume de solvente por grama de meio cultivado (mL/g).

4.3 Hidrólise enzimática do bagaço de malte

Os açúcares redutores (AR) foram analisados de acordo com a metodologia proposta por Miller (1959) e baseados na curva padrão (Figura 3). O pH foi medido em pHmetro de bancada (PHS-3E, Satra). O °Brix foi analisado em refratômetro (Nova).

Figura 3 - Curva padrão de glicose para análise dos açúcares redutores (AR)



Fonte: autoria própria, 2025.

4.3.1 Bagaço de malte

O bagaço de malte foi cedido pela Vierbrauer Cervejaria Artesanal (Cabedelo-PB). Em seguida, ele foi cortado e seco em estufa, em média de 24 a 72h, até secagem completa. Em seguida, foram realizadas a moagem e o peneiramento, respectivamente, para obtenção do resíduo em granulometrias de mesh 16, mesh 20, mesh 30, mesh 40 e mesh 50, sendo utilizada a fração da mistura do mesh 20 e 30 para hidrólise enzimática.

4.3.2 Hidrólise enzimática

Para realização da hidrólise enzimática, foram pesados 7,5 g de bagaço de malte na mesh 40, os quais foram adicionados em *erlenmeyers* de 125 mL. Em seguida, adicionou-se o coquetel enzimático contendo a amilase produzida na concentração de 1,5 U/mL e o tampão citrato (50 mM, pH 4,8) até completar 50 mL de volume final de reação. A hidrólise ocorreu em *shaker*, por 96h, a 50 °C e 150 rpm e foi realizada em duplicata. Os açúcares redutores (AR) foram analisados de acordo com a metodologia proposta por Miller (1959). O pH foi medido em pHmetro de bancada (PHS-3E, Satra). O °Brix foi analisado em refratômetro (Nova).

4.4 Análise da massa do bagaço de malte após a hidrólise

Para avaliar a eficiência das amilases na quebra da biomassa, ao final da hidrólise enzimática (96 h), as amostras foram submetidas à centrifugação a 7.000 rpm por 10 minutos. O sobrenadante foi reservado para análises posteriores. A biomassa foi então colocada em papéis de filtro, que foram anteriormente pesados sem a amostra. O papel de filtro com bagaço de malte foi encaminhado à estufa para secagem a 50 °C por 24h. Em seguida, foram realizadas a pesagem e avaliação da massa obtida.

4.5 Avaliação de compostos fenólicos nas amostras

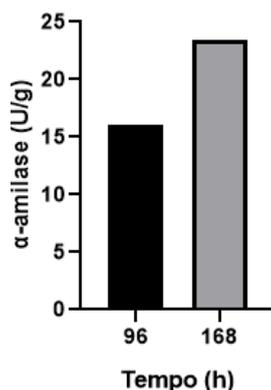
Os compostos fenólicos totais foram analisados pelo método colorimétrico de Folin-Ciocalteu (SLINKARD, K. SINGLETON, V. L. 1977, adaptado). Em tubos de ensaio foram adicionados 300 µL das amostras na diluição 1:6 (50 uL da amostra com 250 uL de água destilada). Foram acrescentados 2,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu 10% e a amostra foi homogeneizada em agitador de tubos. Após 2 minutos em temperatura ambiente, foram adicionados 2 mL de carbonato de cálcio 7,5 %, com o qual a amostra foi homogeneizada em agitador de tubos. Em seguida, as amostras foram aquecidas em banho-maria a 50 °C durante 15 minutos. Após resfriamento das amostras em bancada, foi realizada a leitura da absorbância no espectrofotômetro a 760 nm. O branco da amostra correspondeu a 300 uL de água, seguido da adição do reagente Folin-Ciocalteu e carbonato de cálcio, nas mesmas proporções apresentadas acima.

5. RESULTADOS

Com a realização da fermentação sólida da casca de mandioca, podemos observar, de acordo com a Figura 4, que a atividade de alfa-amilase obtida foi de 16,0

U/L em 96h e 23,4 U/L em 168h.

Figura 4 - Atividade de alfa-amilases após fermentação sólida da casca de mandioca por *Aspergillus* sp. FSDE16



Fonte: Autoria própria.

Kalaiarasi e Parvatham (2015) avaliaram a produção de amilases pelo fungo *Aspergillus awamori* MTCC 9997 em meio contendo casca de mandioca em pó, com umidade de 70% e temperatura de 28°C, e obtiveram resultado de atividade enzimática de 18,2 U/g em 120h de cultivo. Sethi et al. (2016) ao cultivarem o fungo *Aspergillus terreus* NCFE 4269.10 em meio sólido contendo milho com umidade ajustada para 70%, com incubação à 30°C durante 96h e obtiveram atividade de amilases de 16,8 U/g.

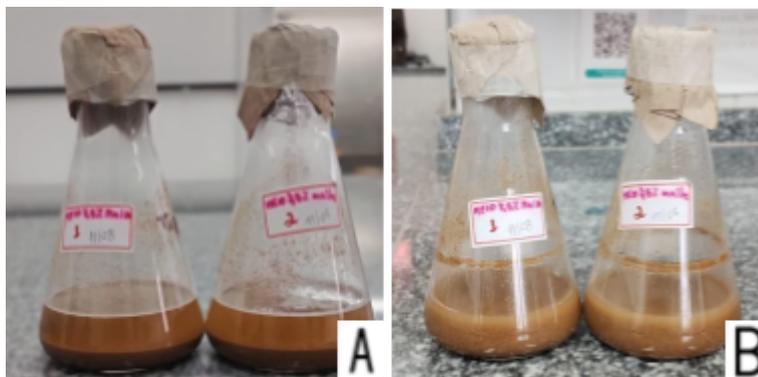
Um estudo realizado por Ren et al (2023) observou que a máxima atividade de amilases produzidas por *Rhizopus oryzae* foi de 0.00051 U/g, em meio sólido com farelo de trigo com 35% de umidade.

Para avaliar o potencial de hidrólise do coquetel enzimático contendo amilases, foi realizada a hidrólise enzimática do bagaço de malte para obtenção de açúcares e compostos fenólicos (Figura 5). Após a realização da hidrólise, observamos que os AR liberados aumentaram de 25,16 AR(g/L) para 35,5 AR(g/L) (Figura 5). O aumento do AR correspondeu a 40% , em relação ao valor inicial.

Em relação ao °Brix, observamos um aumento do °Brix de 2,56 (tempo 0) para 3,8 (96h) (Figura 6). O aumento do °Brix correspondeu a 67%. Em relação ao pH,

observamos que o valor inicial era de 4,66 (tempo 0) e reduziu para 3,91 (96h).

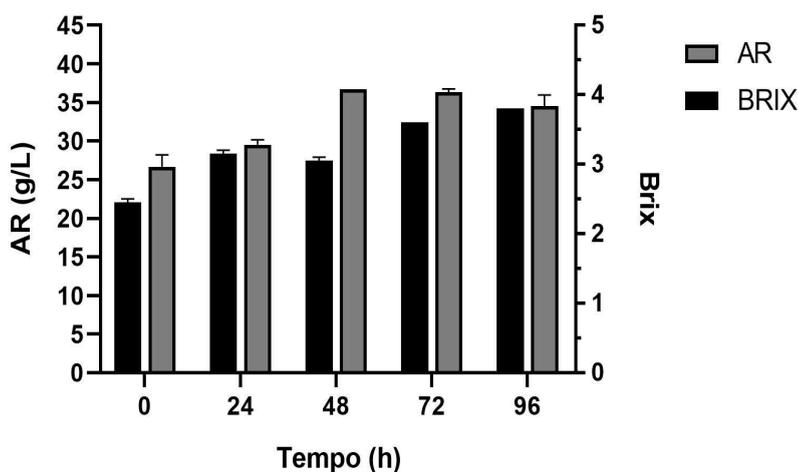
Figura 5 - Hidrólise enzimática do bagaço de malte nos tempos 0 (a) e 96h (b).



Fonte: Autoria própria.

Para Artifon e colaboradores (2020), a concentração máxima de açúcares redutores totais obtida foi de 5 g/L, após hidrólise enzimática com alfa-amilase purificada (20%) e bagaço de malte (0,03 g/L), realizada em banho-termostático por 100 minutos de reação.

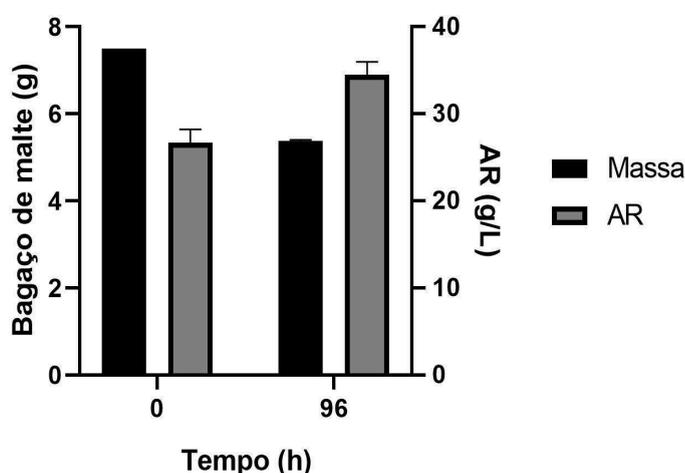
Figura 6 - Hidrólise enzimática do bagaço de malte e análise dos ARTs e °Brix durante 96h de reação.



Fonte: Autoria própria.

Para avaliar a ação das enzimas na quebra da biomassa, foi avaliada a massa do bagaço de malte, antes e após a hidrólise enzimática. Podemos perceber que a massa reduziu de 7,5g para 5,37g. A perda de massa indicou o potencial das enzimas produzidas em promover a quebra do bagaço de malte e a liberação de compostos secundários, como açúcares e fenólicos. A perda de massa correspondeu a aproximadamente 28% de sua massa original (Figura 7).

Figura 7 - Comparação entre a massa do bagaço de malte e os AR nos tempos 0 e após 96h de hidrólise enzimática.



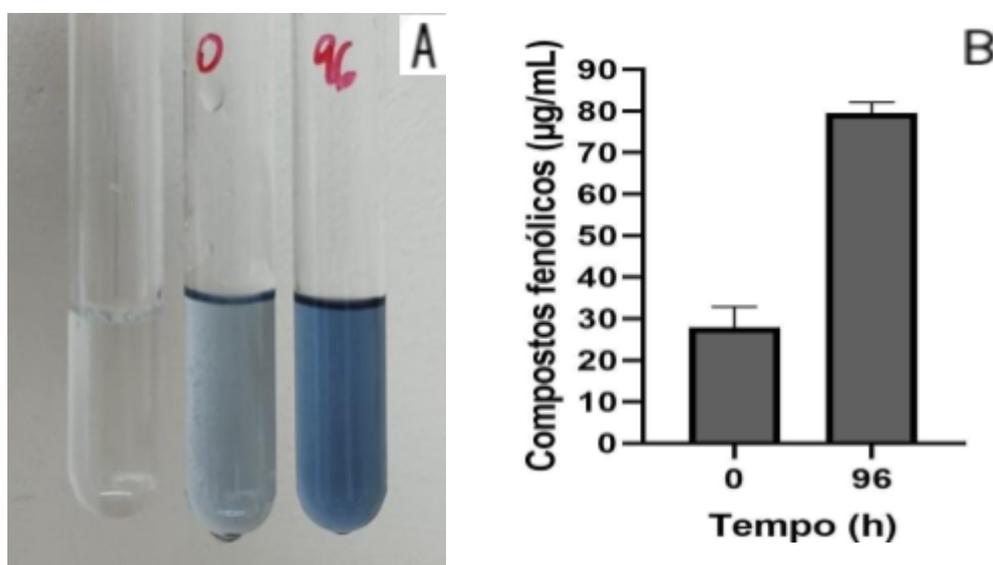
Fonte: Autoria própria.

De acordo com Júnior e colaboradores (2020), o bagaço de malte possui diversos componentes como tecidos fibrosos, arabinosilano, lignina e celulose. Em 100g de bagaço de malte bruto a 66% de umidade, há uma média em base seca de 14,24% de proteínas, 10,84% de fibra bruta, 5,29% de lipídios e 53 mg 100⁻¹ de compostos fenólicos. Ao realizar uma simulação com Python 3.7, foi demonstrado que o teor de compostos fenólicos aumentaria para 62 mg 100⁻¹, com os seguintes parâmetros fixados: pH de 2,5 a 40% de solvente em 1h de extração.

No presente estudo, a análise dos compostos fenólicos demonstrou a presença de 30 µg/mL no tempo 0 e aumentou para 80 µg/mL, após 96h de hidrólise enzimática (Figura 8). Isso demonstrou o potencial das enzimas produzidas neste estudo em promover o aumento de compostos fenólicos no bagaço de malte.

Wu et al (2022) observaram que a fermentação do farelo de trigo por *Rhizopus oryzae* aumentou o teor de fibra solúvel dietética de 0,83% para 5,69%, melhorou componentes de sabor agradáveis, como 2-metilbutiraldeído, 2,3-pentanodiona, n-hexanol e produziu acetato de vinila de forma inédita, além de potencializar a extração de compostos fenólicos antioxidantes.

Figura 8 - Análise (a) dos compostos fenólicos presentes nas amostras antes e após a hidrólise enzimática 0 e 96h.



Fonte: Autoria própria.

O bagaço de malte é uma fonte potencialmente valiosa de ácidos fenólicos, pois é composto basicamente por hemicelulose, um composto bioativo que fornece ácidos hidroxicinâmicos, como os ácidos ferúlico, p-cumárico e caféico. A importância dos ácidos hidroxicinâmicos está no fato de apresentarem propriedades antimutagênicas, antiteratogênicas e anti-inflamatórias (VILLANUEVA, *et al*, 2021).

6. CONCLUSÃO

O presente estudo demonstrou que a fermentação sólida da casca de mandioca pelo fungo *Aspergillus* sp. FSDE16 é uma estratégia eficiente para a produção de amilases com ótima

atividade para aplicação em processos de hidrólise.

Este estudo evidencia que o uso de amilases produzidas por *Aspergillus* sp. FSDE16 em substratos lignocelulósicos, como a casca de mandioca, representa uma alternativa promissora para hidrólise do bagaço de malte para produção de açúcares e compostos fenólicos, que podem ser utilizados na indústria de alimentos e na produção de bioativos com propriedades antioxidantes

Além do aumento do AR e do °Brix, também observamos o aumento da concentração de compostos fenólicos totais, ao final da hidrólise enzimática.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABEDI, E.; KAVEH, S.; HASHEMI, S. M. B. **Structure-based modification of α -amylase by conventional and emerging technologies: Comparative study on the secondary structure, activity, thermal stability and amylolysis efficiency.** *Food Chemistry*, v. 437, p. 137903, 2024.

ALEIXO JÚNIOR, BRUNO CÉSAR REGINALDO DE. *Produção e caracterização de amilases por Aspergillus sp. FSDE16*. 2018. 48 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Química) – Centro de Tecnologia, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2018.

ANIGBORO, A. A., AJOH, A. I., AVWIOROKO, O. J., EHWARIEME, D. A., & TONUARI, N. J. (2023). **Solid-state Fermentation of Cassava (Manihot esculenta) Peels Using Rhizopus Oligosporus: Application of the Fermented Peels in Yeast Production and Characterization of α -amylase Enzyme Produced in the Process.** *Chemistry Africa*, 6, 1669–1678.

ARTIFON, W *ET AL*. **Enzymatic hydrolysis behavior on malt bagasse for fermentative sugar disposal in thermostatic and ultrasonic bath**, 2015. disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/tqem.21695>

ARTIFON, W.; DALASTRA, C.; KUBENECK, S.; KLANOVICZ, N.; LUZZI, S. C.; & ARTIFON, M. A. (2020). **Enzymatic hydrolysis behavior on malt bagasse for**

fermentative sugar disposal in thermostatic and ultrasonic bath. *Environmental Quality Management*, 30(4), 118-124.

ARTOLA, A. *ET AL.* **The role of solid-state fermentation to transform existing waste treatment plants based on composting and anaerobic digestion into modern organic waste-based biorefineries, in the framework of circular bioeconomy.** *Frontiers in Chemical Engineering*, v. 6, p. 1-10, 2024.

CARLOS, F. R. GAMBARATO, B. C.; CARVALHO, A. K. F. de. **Enzimas em processos industriais: Uma visão geral dentro do contexto biotecnológico. In: ANAIS DO CONGRESSO BRASILEIRO DE INOVAÇÃO E GESTÃO DO CONHECIMENTO, 2022.**

CARVALHO-GONÇALVES, L. C. T.; OLIVEIRA, S. G.; SANTOS, L. S.; LIRA, K. G. L. (2017). **Otimização da Produção de Xilanase por Fermentação Submersa.** In: SILVA, A. C. B.; SANTOS, L. S. (Eds.). *A produção e inovação de conhecimento científico e tecnológico na área de Biotecnologia*. Ponta Grossa, PR: Editora Atena, v. 1, p. 28-36.

CASPETA, L. F. *ET AL.* **Enzymes: the future of green chemistry. in: caspeta, l. f. (ed.). industrial biotechnology. intechopen, 2018.**

CHANDRA, S. *ET AL.* **Valorization of brewery spent grain: a sustainable source for bioactive compounds and biofuels. *journal of cleaner production*, v. 330, 130000, 2022.**

CHAVES, K. (2021). **mais de 76% das indústrias brasileiras já aplicam ações sustentáveis, *cnn brasil*.**

CONTECH BRASIL. **Enzimas: economia, sustentabilidade e produtividade. *contech brasil*, 2023.**

DA SILVA, J. P. B. DE SOUZA, L. M., & DE OLIVEIRA, A. C. (2020). **Caracterização e quantificação de compostos fenólicos em extratos vegetais. *Revista Brasileira de Química*, 15(2), 112-125.**



EGBUNE, E. O., EZEDOM, T., ORORORO, O. C., EGBUNE, O. U., AVWIOROKO, O. J., AGANBI, E., ANIGBORO, A. A., & TONUARI, N. J. (2023). **Solid-state fermentation of cassava (*Manihot esculenta* Crantz): a review.** *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 39(10), 259.

FURLANETTO, L. M. *ET AL.* (2018). **desafios da gestão de resíduos industriais no brasil.** *revista de gestão ambiental e sustentabilidade*, 7(15), 154-171.

GEISSLER, E. *ET AL.* **Circular economy in the brewing industry: valorization of malt bagasse.** *sustainable production and consumption*, v. 23, p. 78-87, 2020.

HIMMEL, M. E. *ET AL.* **Biomass Recalcitrance: Engineering Plants and Enzymes for Biofuels Production.** *Science*, 315(5813), 804-807. 2007

IUGA, M.; MIRONEASA, S. **A review of the hydrothermal treatments impact on starch-based systems properties.** *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 60, n. 22, p. 3890-3915, 2020.

JÚNIOR, L. F. C. *ET AL.* **Modelling of the extraction of phenolic compounds from beer malt bagasse using artificial neural network / Modelagem de extração de compostos fenólicos de bagaço de malte de cervejaria usando redes neurais artificiais.** *Brazilian Journal of Development*, Curitiba, v. 6, n. 11, p. 93674-93685, 2020.

KALAIARASI, K.; PARVATHAM, R. **Optimization of process parameters for -amylase production under solid-state fermentation by *Aspergillus awamori* MTCC 9997.** *Journal of Scientific & Industrial Research*, v. 74, p. 286 – 289, 2015.

KAPARAJU, P. *ET AL.* (2010). **Biofuels: Production, Application and Development.** *IntechOpen*.

KIM, K.; TSAO, R.; YANG, R.; CUI, S. **Phenolic acid profiles and antioxidant activities of wheat bran extracts and the effect of hydrolysis conditions.** *Food Chem.* 2006, 95, 466–473

LÄUFER, A. **Starch Biorefinery Enzymes.** *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, v. 166, p. 137-152, 2019.



MENDES, A. B. M.; AGUIAR, L. E. F.; LIMA, V. A. G. O.; SILVA, V. L. M.

Aproveitamento do Bagaço de Malte como Fonte de Compostos Lignocelulósicos para Aplicações em Biomateriais. 2020.

MESBAH, N. M. **Industrial Biotechnology Based on Enzymes From Extreme Environments.** *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, v. 10, 2022.

MILLER, G. L. **Use of dinitro salicylic acid reagent for determination of reducing sugar.** *Analytical Chemistry*, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959.

MISHRA, R., & KUMAR, S. (2021). **industrial waste management: a comprehensive review.** *journal of cleaner production*, 283, 124619.

MONDAL, S.; MONDAL, K.; HALDER, S. K.; THAKUR, N.; MONDAL, K. C. **Microbial Amylase: Old but still at the forefront of all major industrial enzymes.** *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, v. 45, 2022.

MOSIER, N. *ET AL.* (2005). **Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass.** *Bioresource Technology*, 96(6), 673-686.

PAUL, J. S.; *ET AL.* **Aspects and recent trends in microbial α -amylase: a review.** *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v. 193, n. 8, p. 2649-2698, 2021.

PRADO, V. C. *ET AL.* **Caracterização e potencialidades do bagaço de malte como matéria-prima para a indústria.** *Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de alimentos*, v. 55, n. 4, p. 512-525, 2021.

REN, H. *ET AL.* **Correlation Analyses of Amylase and Protease Activities and Physicochemical Properties of Wheat Bran During Solid-State Fermentation.** *Foods*, v. 13, n. 24, p. 3998, 2024.

REN, H.; HOU, M.; ZHOU, X.; WANG, T.; ZHANG, Y.; DING, J. **Correlation Analyses of Amylase and Protease Activities and Physicochemical Properties of Wheat Bran During Solid-State Fermentation.** *Foods* 2024, 13, 3998.



RODRIGUES, P. M.; OLIVEIRA, T. N. **Characterization and utilization of malt bagasse as a by-product of the brewing industry.** *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 66, n. 30, p. 8012-8020, 2018

SILVA, E. P., NEVES, A. L., MORAIS, L. C., AVELINO, M. R., AZEVÊDO, L. V., PEREIRA, D. M., & R. L. V. L. (2024). **The effect of the use of carvacrol on corn silage: Chemical composition, fermentation characteristics, and microbiota.** *Industrial Crops and Products*, 215, 119274.

SILVA, J. A. *ET AL.* **Nutritional profile and potential applications of malt bagasse: a comprehensive review.** *Biotechnology Advances*, v. 50, p. 108-120, 2021.

SINGHANIA, R. R., PATEL, A. K., SOCCOL, C. R., & PANDEY, A. (2009). **Advancement in solid-state fermentation.** *Biochemical Engineering Journal*, 44(1), 13-17.

SLINKARD, K. SINGLETON, V. L. **Total phenol analyses: automation and comparison with manual methods.** *American Journal of Enology and Viticulture*, 28(1), 49-55, 1977.

SODHI, S. K., JHA, A., SHARMA, M., & GUPTA, S. K. (2019). **Solid-state fermentation for the production of enzymes from fungal strains.** In *Bioprocesses for Biofuels and Biomaterials* (pp. 77-96). Springer, Singapore.

SURYAWANSHI RK, JANA UK, PRAJAPATI BP, KANGO N (2019) **Immobilization of Aspergillus quadrilineatus RSNK-1 multi-enzymatic system for fruit juice treatment and mannooligosaccharide generation.** *Food Chem* 289:95–102

TROIANO, D.; ORSAT, V.; DUMONT, M. J. R. **Status of filamentous fungi in integrated biorefineries.** *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 117, 2020.

TURINI, CAMILA DA SILVA *ET AL.* **Hidrólise enzimática de carboidratos em coprodutos do arroz beneficiado.** *Ciência Rural*, v. 51, n. 11, 2021. DOI: 10.1590/0103-8478cr20200522.

UFAL. **Casca da macaxeira pode servir de base para produção de energia.** [S. l.], 2019. Disponível em:



<https://noticias.ufal.br/ufal/noticias/2019/7/casca-da-macaxeira-pode-servir-de-base-para-prod ucao-de-energia>.

VAN LANEN, H. A., RINZEMA, A., TRAMPER, J., & HU, W. S. (2017).

Solid-state fermentation. In *Biotechnology of microbial enzymes* (pp. 173-200).

Springer, Singapore.

VIANA, G. S. SANTOS, M. E., & PEREIRA, F. A. (2021). **Compostos fenólicos: estrutura, propriedades e aplicações.** *Boletim da Academia Paulista de Ciências*, 25(4), 345-360.

VILLANUEVA, *ET AL.* **Brewers' spent grain (BSG): bioresidual with potential application at functional, material, and energetic level.** *Prospectiva*, v. 19, n. 1, 2021.

WOODLEY, J. M. **Biocatalysis: green chemistry for a sustainable future.** *chemical society reviews*, v. 43, n. 21, p. 7414-7420, 2014.

Wu, J.; Ren, L.; Zhao, N.; Wu, T.; Liu, R.; Sui, W.; Zhang, M. **Solid-state fermentation by *Rhizopus oryzae* improves flavor of wheat bran for application in food.** *J. Cereal Sci.* 2022, 107, 103536.

