



Valorização de resíduos da cacaucultura: Obtenção de endoglucanases de *Penicillium commune* via Fermentação em estado sólido

Layza S. Santana¹; Nívio B. Santana¹; Alexsandra N. Ferreira¹; Tatielle P. Silva¹

¹Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia.

layzasantossantanasantos@gmail.com

Palavras-Chave: CMCase, Bioprocesso, Farelo de cacau

Introdução

O gerenciamento de resíduos agroindustriais representa um obstáculo global para os processos produtivos em larga escala. Diante do acelerado crescimento observado desde o início do século passado, consolidou-se uma conscientização social voltada à busca por um equilíbrio entre a produção industrial e a mitigação dos impactos ambientais. Esse cenário é reforçado por dados expressivos: em 2019, o desperdício de alimentos atingiu cerca de 931 milhões de toneladas, equivalente a 17% do total disponibilizado ao consumidor final, distribuídos entre domicílios, comércio e serviços de alimentação (FAO, 2021).

A cultura do cacauieiro (*Theobroma cacao* L.), matéria-prima essencial para o setor de chocolates (Guirlanda *et al.*, 2021), movimenta cerca de 5 milhões de toneladas de amêndoas anualmente no mundo, sob liderança africana (Nascimento *et al.*, 2025). Em 2023, a produção brasileira alcançou 296 mil toneladas, mantendo o país na sexta posição mundial (IBGE, 2024). Diante de expressivo volume de biomassa processada, torna-se estratégico desenvolver alternativas sustentáveis para a valorização dos subprodutos derivados dessa atividade. A casca da amêndoa do cacau (*Cocoa Bean Shell* – CBS) é um coproduto gerado durante o descascamento do fruto no processo de fabricação do chocolate. Estima-se que os subprodutos do cacau, incluindo a casca do fruto, a polpa e a CBS representem aproximadamente 80% de toda a biomassa produzida nessa cadeia (Afedzi *et al.*, 2023). Nesse contexto, o aproveitamento biotecnológico desse resíduo surge como uma alternativa viável e sustentável para a valorização da cadeia do cacau e a redução do passivo ambiental do setor (Kiran *et al.*, 2014).

Nesse sentido a Fermentação em Estado Sólido apresenta-se como uma alternativa importante no bioprocessamento desses resíduos. A FES preconiza, o cultivo de um microrganismo em um substrato sólido (resíduo), que contém a quantidade de umidade necessária apenas para sustentar o crescimento e o metabolismo do microrganismo. Logo, essa técnica permite o crescimento de microrganismos em material sólido onde há ausência ou quase ausência de água (PANDEY *et al.*, 2000). Os fungos filamentosos representam os microrganismos mais promissores, pela variedade de produtos de seu metabolismo e devido ao desenvolvimento das hifas que permite aos mesmos maiores penetrações no substrato e nas regiões porosas entre partículas da matéria-prima (Srivastava *et al.*, 2018).

Os fungos do gênero *Penicillium* são amplamente distribuídos na natureza podendo ser encontrado em solos de florestas, madeiras e silagens (GILLOT *et al.* 2015). Possui muitas características favoráveis à fermentação, que incluem a tolerância a condições severas como baixas temperaturas, baixos níveis de oxigênio, altas concentrações de dióxido de carbono e resistência ao pH e ácidos orgânicos. O *Penicillium commune* é um fungo conhecido como um



dos fungos mais comuns que deterioram queijos. Também cresce e deteriora outros alimentos, como produtos cárneos e produtos ricos em gordura. As enzimas são catalisadores biológicos específicos que aceleram as reações devido à diminuição na energia de ativação (LEHNINGER, 2019). A endo- β -1,4-glucanase, também conhecida como endoglucanase, é uma enzima que pode ser utilizada para metabolizar vários processos. As celulases ocupam a terceira posição do ranking mundial e representam 20% da demanda mundial anual por enzimas (SRIVASTAVA et al., 2021), e são amplamente utilizadas em vários ramos da biotecnologia, desde indústria alimentícia, de bebidas, cuidados pessoais e domésticos, agricultura, bioenergia, farmacêutico, têxtil, entre outros (FASIM et al., 2021).

Dessa forma, o objetivo do estudo foi avaliar a cinética da produção de endoglucanase produzida pelo fungo filamentoso *Penicillium commune* utilizando o resíduo farelo de cacau como substrato.

Material e Métodos

O micro-organismo utilizado foi o fungo filamentoso *Penicillium commune*, proveniente da cepa do Laboratório de resíduos agroindustriais (LABRA-UESB). O fungo filamentoso foi cultivado em meio de cultura de Agar dextrose-potato (PDA) em placas de Petri e colocados em estufa bacteriológica a 30° C durante sete dias e em seguida foi armazenado em ambiente refrigerado.

O farelo de cacau utilizado foi obtido de uma agroindústria de beneficiamento de alimentos localizada na região sul da Bahia. Esse farelo foi submetido a um processo de separação granulométrica, a partir da trituração (20 mesh) em moinho de facas tipo Willey e armazenado a temperatura ambiente.

A Fermentação em Estado Sólido (FES) foi realizada utilizando frascos Erlenmeyer de 250 mL contendo 10g de resíduo de farelo de cacau como substrato, onde a quantidade de água destilada foi ajustada para atingir a umidade desejada (60%). Cada erlenmeyer passou por processo de esterilização em autoclave por 20 minutos a 120°C e pressão de 1 atm (NEVES et al., 2022). Após o resfriamento à temperatura ambiente, foram inoculados com três discos de micélio (5 mm) da cepa fúngica (PATEL E SHAH, 2021). Em seguida, os erlenmeyer foram incubados em uma câmara de germinação com temperatura controlada a 30°C durante dez dias (SILVA, et al. 2018).

O perfil fermentativo foi realizado a fim de encontrar a maior atividade de hidrólise enzimática e o melhor tempo de fermentação. Para isso realizou-se a fermentação por 168 horas, onde a cada 24 horas uma alíquota foi retirada e determinada à atividade da endoglucanase.

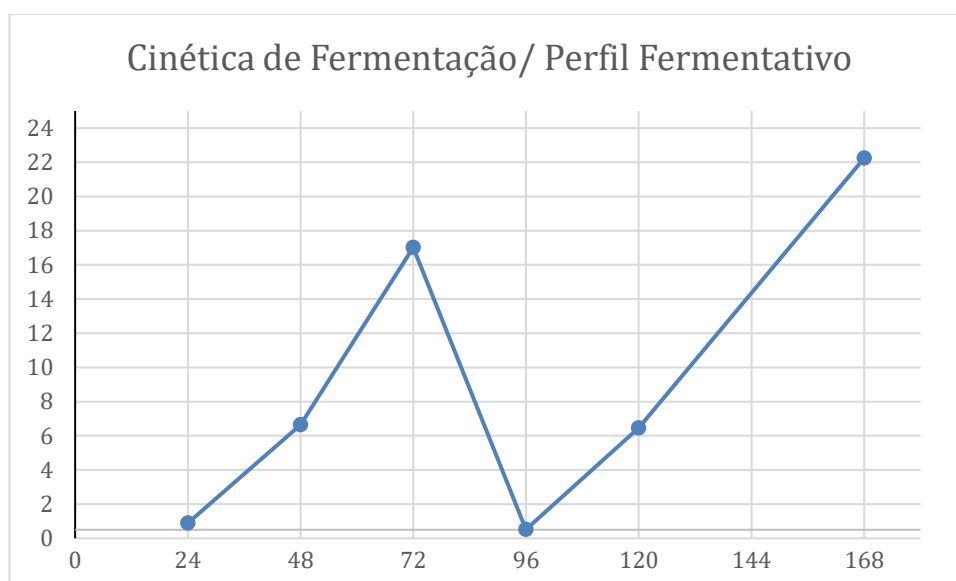
A atividade enzimática foi determinada através da quantificação de açúcares redutores obtidos através da hidrólise enzimática no substrato Carboximetilcelulase 2% (CMC). Foram utilizados 100 μ L do extrato bruto enzimático, 100 μ L de solução de CMC e 100 μ L do tampão acetato de sódio (0,1 M/pH 5). Essas amostras foram incubadas a 50° C durante 60 minutos, em seguida foi adicionado 200 μ L do ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS), submetido a aquecimento

a 100° C durante 5 minutos e adição de 500 µL água destilada. A liberação de açúcares redutores foi determinada pelo método de Miller (1959) em espectrofotômetro a 540 nm (SILVA et al.,2018).

Resultados e Discussão

A Cinética de fermentação / perfil fermentativo da endoglucanase foi avaliado ao longo de um período de 168 horas, com coleta de amostras a cada 24 horas, utilizando o resíduo de farelo cacau. Os resultados do perfil de produção da enzima revelaram que o fungo filamentoso *Penicillium commune* foi capaz de produzir a enzima endoglucanase utilizando o resíduo agroindustrial farelo de cacau, conforme ilustrado na Figura 1.

Figura 1- Perfil de produção da endoglucanase (U/mL) em fermentação em estado sólido *Penicillium commune*, utilizando farelo de cacau.



Fonte: a autora, 2026.

Conforme observado na Figura 1, o fungo foi capaz de sintetizar endoglucanase no meio sólido à base de resíduo agroindustrial, sem necessidade de qualquer suplementação. O cultivo ocorreu sob temperatura de 35 °C e 60% de umidade, durante 168 horas, utilizando três discos de micélio (5 mm) como inóculo. Esse resultado é justificado pela notável capacidade desse microrganismo de se desenvolver em diversos substratos e tolerar diferentes faixas de temperatura e alta umidade relativa (Araújo et al., 2007; Sussel et al., 2011; Dantas et al., 2012).

Observa-se que *Penicillium commune* atingiu o pico de produção de endoglucanase no extrato bruto (22,244 U/mL) após 168 horas de fermentação sólida (Figura 1), evidenciando seu grande potencial para a obtenção de enzimas do complexo celulolítico a baixo custo. Vale



ressaltar que a variação da atividade enzimática ao longo do tempo caracterizada pelo crescimento inicial, pico e posterior declínio está diretamente relacionada à disponibilidade de nutrientes no meio (Santos et al., 2016). Esse perfil comportamental, nitidamente visível na Figura 1, reflete também a forte dependência da produção de endoglucanase em relação à natureza da fonte de carbono empregada (Gao et al., 2008).

A obtenção de endoglucanase por meio da fermentação sólida de resíduos agroindustriais tem se consolidado como uma estratégia promissora. Além do relevante apelo ambiental, essa técnica destaca-se pela alta eficiência no suporte nutricional a microrganismos, viabilizando a produção de biomoléculas de grande interesse biotecnológico a baixo custo (MASARENTE et al., 2020).

De modo geral, as atividades enzimáticas das endoglucanases neste trabalho formam superiores as de outros organismos produtores de celulasas, como foi obtido por Mohapatra et al. (2018) que avaliou a produção de celulase por *Aspergillus fumigatus* usando resíduos celulósicos obtendo uma maior atividade de endoglucanase ($0,287 \text{ U mL}^{-1}$), já Carvalho (2013) obteve $0,164 \text{ U mL}^{-1}$ cultivando *Cryptococcus laurentii* em farelo de trigo.

Conclusões

Os resultados obtidos demonstram que o resíduo de farelo de cacau é um substrato promissor e eficiente para a valorização biotecnológica via Fermentação em Estado Sólido (FES). O fungo filamentoso *Penicillium commune* mostrou-se capaz de sintetizar a enzima endoglucanase sem a necessidade de suplementação nutricional, sob condições de 35°C e 60% de umidade. A cinética do processo indicou que o ápice da produção enzimática ocorreu no tempo de 168 horas de fermentação, atingindo uma atividade máxima de $22,244 \text{ U/mL}$ no extrato bruto. Essa atividade enzimática superou significativamente valores reportados na literatura para outros microrganismos celulolíticos, evidenciando o elevado potencial do *P. commune* e o uso do farelo de cacau como uma alternativa sustentável, de baixo custo e com apelo ambiental para a produção de enzimas do complexo celulolítico.

Agradecimentos

Os autores agradecem a UESB, CNPq e à FAPESB pelo apoio financeiro.

Referências

- Afedzi, A.E.K., Rattanaporn, K., Parakulsuksatid, P., 2022. Impeller selection for mixing high-solids lignocellulosic biomass in stirred tank bioreactor for ethanol production. *Bioresour. Technol. Rep.* 17, 100935. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2021.100935>
- ARAÚJO, A. E.; SUASSUNA, N. D.; COUTINHO, W. M. Doenças e seu Manejo. In: Azevedo, D. M. P.; Beltrão, E.M. 2007. O Agronegócio da Mamona no Brasil. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2, 283-303.



DANTAS, F. V.; ALMEIDA, R. P.; SILVA FILHO, J. L.; SOARES, D. J. 2012. Efeito da temperatura sobre os componentes monocíclicos de *Amphobotrys ricini* em frutos destacados de mamoneira. *Trop Plant Pathol.* 38,615. 2012.

FASIM, A., MORE, V.S. and MORE, S.S., 2021. Large-scale production of enzymes for biotechnology uses. *Current Opinion in Biotechnology*, vol. 69, pp. 68-76. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2020.12.002> PMID:33388493.

FAO. **State of food security and nutrition in the world 2021**. Roma, 2021

GILLOT, G. et al. Insights into *Penicillium roqueforti* morphological and genetic diversity. *Plos one*. v. 10, n. 6, p. 1-21, 2015

GUIRLANDA, C. P.; SILVA, G. G.; TAKAHASHI, J. A. Cocoa honey: agro-industrial waste or underutilized cocoa by-product? *Future Foods*, v. 4, p. 100061, 2021. DOI: 10.1016/j.fufo.2021.100061.

IBGE –INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola (LSPA). Tabela 6588 –Série histórica da estimativa anual da área plantada, área colhida, produção e rendimento médio dos produtos agrícolas. Rio de Janeiro: IBGE, 2024. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/cacau/br>. Acesso em: 20 jun. 2026.

KIRAN, E. U.; TRZCINSKI, A. P.; NG, W. J.; LIU, Y. Enzyme production from food wastes using a biorefinery concept. *Waste Biomass Valorization*, v. 5, p. 903-917, 2014.

LEHNINGER, T. M., NELSON, D. L. & COX, M. M. *Princípios de Bioquímica*. 7ª Edição, 2019. Ed. Artmed.

NASCIMENTO, M. B.; ALENCAR, J. C.; PAULINO, B. N.; NASCIMENTO, J. C.; FERREIRA, T. R.; BATISTA, A.S. et al. Functional and technological potential of by-products from the cocoa (*Theobroma cacao*L.) production chain. *Food Chemistry*, p. 145718, 2025. DOI: 10.1016/j.foodchem.2025.145718.

NEVES, CA., MENEZES, LHS., SOARES, GA., REIS, NS., TAVARES,IMC., FRANCO, M., OLIVEIRA, JR. Production and biochemical characterization of halotolerant β -glucosidase by *Penicillium roqueforti* ATCC 10110 grown in forage palm under solid-state fermentation. *Biomass Conversion and Biorefinery*, p. 1-12, 2020.

MASSARENTE, VANESSA & ZANONI, JESSICA & GOMES, ELENÍ & BONILLARODRIGUEZ, GUSTAVO. (2020). Biochemical characterization of endoglucanases produced by *Myceliophthora thermophila* M.7.7 in solid-state culture. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*.

MILLER, G.L., 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugars. *Anal. Chem.* 31, 426-428

Mohapatra, S., Padhy, S., Mohapatra, P. K. D., Thatoi, H. N., 2018. Enhanced reducing sugar production by saccharification of lignocellulosic biomass, *Pennisetum* species through cellulose from a newly isolated *Aspergillus fumigatus*. *Bioresource Technology*. 253, 262-272.

PANDEY, A.; SOCCOL, C. R.; MITCHELL, D. New developments in solid state fermentation: I-bioprocesses and products. *Process Biochemistry*. v. 35. p. 1153-1169. 2000

PATEL, A., & SHAH, A. (2021). Purification and characterization of novel, thermostable and non-processive GH5 family endoglucanase from *Fomitopsis meliae* CFA 2. *International Journal of Biological Macromolecules*, 182, 1161–1169.

SANTOS, T.C.; REIS, N. S; SILVA, T. P.; FRANCO M. Prickly Palm Cactus Husk as a Raw Material for Production of Ligninolytic Enzymes by *Aspergillus niger*. *Food Sci. Biotechnol.* v. 25, n. 1, p. 205-211, 2016.



SILVA, TP; de ALBUQUERQUE, FS; dos SANTOS, CWV; FRANCO, M; CAETANO LC; PEREIRA HJV. 2018. Production, purification, characterization and application of a new halotolerant and thermostable endoglucanase of *Botrytis ricini* URM 5627. *Bioresour Technol.* 270:263-269.

SRIVASTAVA, N., SRIVASTAVA, M., MISHRA, P. K., GUPTA, V. K., MOLINA, G., RODRIGUEZ-COUTO, S., & RAMTEKE, P. W. (2018). Applications of fungal cellulases in biofuel production: advances and limitations. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 82, 2379-2386.

SRIVASTAVA, N., SRIVASTAVA, M., ALHAZMI, A., KAUSAR, T., HAQUE, S., SINGH, R., ... & GUPTA, V. K. (2021). Technological advances for improving fungal cellulase production from fruit wastes for bioenergy application: A review. *Environmental Pollution*, 287, 117370.

SUSSEL, A. A. B.; POZZA, E. A.; CASTRO, H. A.; LASMAR, E. B. C., 2011. Incidência e severidade do mofo-cinzentado-da-mamoneira sob diferentes temperaturas, períodos de molhamento e concentração de conídios. *Summa Phytopathol.*, 37, 30-34.