

Avanços na biotecnologia de enzimas hidrolíticas industriais: biodigestão anaeróbia como fonte de microrganismos produtores – um estudo de revisão

Advances in biotechnology of industrial hydrolase enzymes: anaerobic biodigestion as a source of producing microorganisms – a review study

Larice Aparecida Rezende Santana¹, Elis Marina Turini Claro², Fernanda Mara Fernandes³, Marcelo Henrique Otenio⁴, Mirian Pereira Rodarte⁵

¹ Faculdade de Farmácia, Doutoranda Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora - MG, Brasil, laricerezende.santana@estudante.ufjf.br
² Faculdade de Medicina, Professora, Universidade do Oeste Paulista, São Paulo - SP, Brasil, elis@unoeste.br
³ Centro Universitário FAMINAS, Professora, Muriaé – MG, Brazil, fernanda.fernandes@professor.faminas.edu
⁴ Embrapa Gado de Leite, Pesquisador, Juiz de Fora - MG, Brasil, marcelo.otenio@embrapa.br
⁵ Faculdade de Farmácia, Professora, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora - MG, Brasil, mirianpereira.rodarte@ufjf.br

Resumo

Enzimas microbianas hidrolíticas, como amilase, celulase, xilanase, lipase e protease, são biocatalisadores que degradam biomoléculas complexas em produtos mais simples. Elas atuam de maneira sustentável sob condições ideais de pH e temperatura, são altamente estáveis e eficientes em transformações químicas, e são amplamente aplicadas em uma variedade de indústrias, como a alimentícia, biocombustível, química, farmacêutica, papel e celulose, e têxtil. Ambientes com elevada concentração de matéria orgânica são fontes ideais para a bioprospecção de microrganismos produtores dessas enzimas, pois proporcionam condições favoráveis para seu crescimento e desenvolvimento. A biotecnologia busca valorizar a biodiversidade microbiana ao identificar microrganismos com potencial de produção de enzimas isolados dessas fontes, visando tanto vantagens biotecnológicas quanto econômicas. A bioprospecção de enzimas hidrolíticas produzidas por microrganismos isolados de fontes pouco exploradas aumenta a disponibilidade dessas biomoléculas, impulsionando o desenvolvimento de novas aplicações biotecnológicas. A biodigestão anaeróbia, um processo biológico que trata resíduos orgânicos complexos por meio de metabolismo de diversos microrganismos produtores de metabólitos ativos, é uma fonte promissora de microrganismos produtores de enzimas hidrolíticas industriais. Esta revisão destaca a importância de avaliar a biodigestão anaeróbia como uma valiosa fonte de microrganismos produtores de enzimas hidrolíticas.

Palavras-chave: Enzimas hidrolíticas; biodigestão anaeróbia; biotecnologia; microrganismos.

Abstract

Microbial hydrolytic enzymes, such as amylase, cellulase, xylanase, lipase, and protease, are biocatalysts that break down complex biomolecules into simpler products. They function sustainably under optimal pH and temperature conditions, are highly stable and efficient in chemical transformations, and are widely applied in a variety of industries such as food, biofuel, chemical, pharmaceutical, pulp and paper, and textile. Environments with high concentrations of organic matter are ideal sources for bioprospecting microorganisms that produce these enzymes, as they provide favorable conditions for their growth and development. Biotechnology aims to harness microbial biodiversity by identifying microorganisms with enzyme production potential isolated from these sources, seeking both biotechnological and economic advantages. The bioprospecting of hydrolytic enzymes produced by microorganisms isolated from underexplored sources increases the availability of these biomolecules, driving the development of new biotechnological applications. Anaerobic digestion, a biological process that treats complex organic waste through the metabolism of various microorganisms producing active metabolites, is a promising source of microorganisms that produce industrial hydrolytic enzymes. This review highlights the importance of evaluating anaerobic digestion as a valuable source of microorganisms that produce hydrolytic enzymes.

Keywords: Hydrolytic enzymes; anaerobic digestion; biotechnology; microorganisms.

1 INTRODUÇÃO



As enzimas hidrolíticas produzidas por microrganismos, como bactérias e fungos, são os principais biocatalisadores aplicados em diversas indústrias, incluindo a de alimentos, de biocombustíveis, química, farmacêutica, papel e celulose, e têxtil (THAPA et al., 2019).

Nessas indústrias, as enzimas hidrolíticas de origem microbiana são empregadas para degradar macromoléculas/biomoléculas complexas em produtos mais simples. Esse processo resulta em uma ampla variedade de novos produtos com estruturas químicas distintas, altamente valorizados no setor industrial, tornando a produção de enzimas hidrolíticas um campo promissor na biotecnologia para a síntese de compostos de alto valor comercial (CONSTANCIO et al., 2020; LOHANI; HAVUKAINEN, 2018; OLICÓN-HERNÁNDEZ et al., 2022; RESENDE et al., 2015; YADAV, 2021).

A valorização industrial das enzimas hidrolíticas de origem microbiana, em comparação com as com as obtidas de fontes vegetais, animais e sintéticas, é impulsionada pelas suas vantagens biotecnológicas. Essas incluem baixo custo de produção devido à possibilidade do uso de matérias-primas acessíveis, facilidade de produção em larga escala de maneira sustentável e eficiente, além de não gerarem efeitos tóxicos ou resíduos perigosos (FASIM; MORE; MORE, 2021; LAMILLA et al., 2017).

As fontes com elevada concentração de matéria orgânica têm sido fundamentais para a expansão do mercado mundial de enzimas de origem microbiana, devido às suas condições ideais de pH, temperatura e substratos para o desenvolvimento de microrganismos produtores de enzimas hidrolíticas (OLICÓN-HERNÁNDEZ et al., 2022). Uma fonte ainda pouco explorada, de microrganismos com potencial de produção de enzimas hidrolíticas para aplicação industrial, é a Biodigestão Anaeróbia (BA).

A biodigestão anaeróbia é um bioprocesso sustentável que se destaca como uma solução abrangente para o tratamento de resíduos orgânicos complexos. Esse bioprocesso ocorre por meio do metabolismo de microrganismos que produzem metabólitos ativos, promovendo a degradação eficiente da matéria orgânica. Como resultado, a BA gera biogás, uma fonte de energia alternativa, e produz efluentes com importantes nutrientes. Esses efluentes podem ser utilizados como biofertilizantes, reduzindo a necessidade de fertilizantes químicos e contribuindo para práticas agrícolas mais sustentáveis (PASALARI et al., 2021).

Considerando esse cenário, esta revisão aborda a diversidade microbiana produtora de enzimas hidrolíticas, como amilase, celulase, xilanase, lipase e protease, encontrada no processo de BA. Além de discutir sobre os microrganismos produtores e as propriedades das enzimas hidrolíticas de origem microbiana, bem como seus mecanismos de ação e aplicações industriais.

2 METODOLOGIA

Para a revisão sistemática de literatura sobre o potencial da biodigestão anaeróbia como fonte de microrganismos produtores de enzimas hidrolíticas industriais, foram utilizados artigos em inglês, publicados entre 2012 a 2023. A busca foi iniciada no primeiro semestre de 2023, utilizando as bases de dados on-line Google Acadêmico, Periódicos CAPES, PubMed, ScienceDirect e Scopus combinando-se as palavras-chaves: enzimas hidrolíticas x microrganismos hidrolíticos x biodigestão anaeróbia, combinadas por meio dos operadores booleanos "AND" e "OR".

Para a seleção da literatura, foram consideradas a importância e a pertinência do tema. Assim, foram selecionados estudos que tratavam das principais enzimas hidrolíticas de origem microbiana e a caracterização da diversidade microbiana em sistemas de BA.



Na pesquisa pelos termos indexados enzimas hidrolíticas X microrganismos hidrolíticos X biodigestão anaeróbia foram identificados 467 artigos. Desse quantitativo total, 142 artigos foram identificados na base de dados Google Acadêmico, 110 artigos no Periódicos CAPES, 79 artigos no PubMed, 44 artigos no ScienceDirect e 92 artigos no Scopus. Esses artigos foram analisados com base na sua importância e pertinência ao tema estabelecidos na metodologia, resultando no total de 85 artigos selecionados.

4 REVISÃO DE LITERATURA E DISCUSSÃO

4.1 BIODIGESTÃO ANAERÓBIA COMO FONTE DE MICRORGANISMOS PARA APLICAÇÃO INDUSTRIAL

A biodigestão anaeróbia, um processo biotecnológico sustentável, além de tratar resíduos orgânicos complexos, se destaca como uma fonte potencial de microrganismos produtores de metabólitos ativos de aplicações industriais, capazes de promover oportunidades inovadoras e impulsionar o desenvolvimento industrial significativo. Esse bioprocesso, caracterizado por sua eficiência energética e baixo custo operacional, utiliza o metabolismo microbiano para degradar compostos orgânicos complexos em moléculas menores, que leva à produção de biogás. Microrganismos anaeróbios e/ou anaeróbios facultativos desempenham papéis cruciais ao longo das quatro fases distintas da decomposição das substâncias orgânicas: hidrólise, acidogênese, acetogênese e metanogênese (Figura 1) (PASALARI et al., 2021).

Carboidratos, Proteínas, Lipídeos Bactéria fermentativa (Hidrólise) Monossacarídeos. Ácidos graxos, Álcool Aminoácidos Bactéria fermentativa (Acidogênese) Ácidos voláteis (Propiônico, Butírico, etc.) Bactéria acetogênica (Acetogênese) Acetogênicas produtoras de hidrogênio $H_2 + CO_2$ Acetato Acetogênicas que utilizam hidrogênio Archaeas metanogênicas (Metanogênese) CH₄ + CO₂ Archaeas metanogênicas hidrogenotróficas Archaeas metanogênicas acetoclásticas

Figura 1. Representação esquemática das vias metabólicas e grupos microbianos na biodigestão anaeróbia

Fonte: Adaptado de PASALARI et al., 2021.

Na hidrólise, microrganismos hidrolíticos, como aqueles dos filos *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Chloroflexi*, *Firmicutes*, e *Proteobacteria*, são fundamentais (PASALARI et al.,



2021). Eles produzem enzimas extracelulares, como amilase, celulase, xilanase, lipase e protease, que degradam e/ou solubilizam moléculas complexas insolúveis, como lipídios, polissacarídeos e proteínas em moléculas solúveis, como ácidos graxos, açúcares, aminoácidos, álcoois e aldeídos (AKINDOLIRE; RAMA; ROOPNARAIN, 2022; PRAMANIK et al., 2019).

Na acidogênese, os microrganismos acidogênicos, como *Clostridium sp.* e *Bacteroides sp.*, transformam os produtos da hidrólise em ácidos graxos voláteis, como ácidos acético, butírico e propiônico, além de álcoois. Esses ácidos e álcoois são os substratos essenciais para a etapa subsequente da acetogênese, onde microrganismos acetogênicos, como *Desulfococcus sp.* e *Desulfotomaculum sp.* convertem esses produtos da acidogênese em H₂ e CO₂ (OTTONI et al., 2022; PRAMANIK et al., 2019).

Na metanogênese, os microrganismos metanogênicos anaeróbios estritos, como *Archaeas metanogênicas*, *Methanosarcina sp.* e *Methanobacterium sp.*, convertem o acetato, H₂ e CO₂ em CH₄ (OTTONI et al., 2022; PRAMANIK et al., 2019). O metano produzido é o componente principal do biogás gerado durante a BA, que pode ser aproveitado como fonte de energia renovável (ATELGE et al., 2020; JIN et al., 2021).

Essa diversidade microbiana, presente no bioprocesso de BA, conforme descrito na literatura, possui um potencial biotecnológico relevante, com destaque para a produção de enzimas hidrolíticas industriais (AB RASID et al., 2021; CHANDRA et al., 2020; DE CAMARGO et al., 2023; HOSSAIN et al., 2020; JIA et al., 2019; MARTINS-SILVA et al., 2023; MORAN-AGUILAR et al., 2021; PASON et al., 2020; SOLANKI et al., 2021; SUKSONG et al., 2019; WONGFAED et al., 2023). Contudo, os estudos realizados em biorreatores anaeróbios operados com diferentes substratos têm se concentrado principalmente na investigação da cinética de produção de biogás como produto final, caracterizando a caracterização da diversidade microbiana presentes nas fases do bioprocesso de BA e sua influência na eficiência do mesmo (Tabela 1).



Artigo recebido: 22/08/2024 Artigo aceito para publicação: 07/10/2024 Tabela 1. Diversidade microbiana com potencial biotecnológico presentes em biorreatores anaeróbios operados com diferentes substratos

Biorreator do sistema de biodigestão anaeróbia	Substrato	рН	Temperatura (° C)	Tempo de retenção hidráulico (dias)	Diversidade microbiana	Referências
Biorreator anaeróbio semi-contínuo	Resíduos alimentares	7,39 -7,82	35	30	Bacteroides sp. Lachnospiraceae sp. Novosphingobium sp. Ruminococcaceae sp.	(YI et al., 2014)
Biorreator anaeróbio contínuo	Dejeto da pecuária leiteira + Casca de Arroz	6,1-7,8	27,2-33,5	30	Mucor sp.	(AKINTOKUN; ABIBU; OYATOOGUN, 2017)
Reator anaeróbio em batelada sequencial (ASBR)	Dejeto da pecuária leiteira	7,0-7,4	40	40	Longilinea sp. Rhodopirellula islandica	(YILDIRIM et al., 2017)
Reator de fluxo e agitação Contínuo (CSTR)	Resíduos alimentares + águas residuais	7,8-7,9	35	35	Tepidimicrobium sp.	(KIM et al., 2018)
Biorreator anaeróbio semi-contínuo	Dejeto da pecuária leiteira	7,68-7,93	37-55	18,8-37,5	Bacillus sp. Pseudomonas sp.	(PAN et al., 2018)
Biorreator anaeróbio em batelada	Biorreator 1: Esterco de frango + vegetais + gordura animal + caldo de cana Biorreator 2: Esterco de frango + vegetais + gordura animal + resíduos de iogurte Biorreator 3: Esterco de frango + vegetais + gordura animal + resíduos de frutas	6,7-9,1	37	32	Aspergillus niger Penicillium sp.	(OLUFEMI; VERONICA; GODWIN, 2019)



	7 trugo dooko para pasiloagao. 07/10/2021							
Plug- flow	Biorreator 1: Efluente da estação de tratamento de cervejaria + dejeto da pecuária leiteira Biorreator 2: Soro de queijo ricota + dejeto da pecuária leiteira		18 - 35	165	Pseudomonas aeruginosa	(DA SILVA et al., 2021)		
Biorreator modelo Lagoa Coberta	Dejeto bovino	7,1	35	35	Staphylococcus spp.	(MAMINDLAPELLI et al., 2021)		
Biorreator anaeróbio em batelada	Biomassa lignocelulósica	4,1 - 5,0	35 e 55	30 - 60	Clostridium thermocellum	(MANYI-LOH; LUES, 2023)		

Fonte: Elaborada pela autora (2024).



É relevante destacar que, embora a literatura relate que a diversidade microbiana caracterizada nesses estudos possa apresentar características fisiológicas importantes para a produção de biomoléculas, como enzimas, essa perspectiva ainda não recebeu a devida atenção e investigação (FLORES-MENDOZAA et al., 2020; NKUNA et al., 2022).

Embora esses estudos tenham sido desenhados e conduzidos em condições ideais para o desenvolvimento da diversidade microbiana, incluindo aspectos que promovem eficiência e produção de metabólitos ativos, como substratos com concentrações ideais de carbono, nitrogênio, nutrientes e minerais; pH dentro da faixa de 6,5 a 7,5; temperaturas ótimas; tempo de retenção hidráulica (TRH) adequado para a degradação da matéria orgânica; e biorreatores que proporcionam condições propícias para que os microrganismos atuem sobre a biomassa, nesses estudos não foi explorado o potencial do bioprocesso de BA como fonte alternativa e promissora de microrganismos com potencial para a produção de enzimas hidrolíticas industriais (BÜCKER et al., 2020; MUHONGO; PREGO; VALENTIM, 2022; NKUNA et al., 2022).

Isso evidencia uma ausência de valorização das estratégias de bioprospecção e biotecnologia, uma vez que, a biotecnologia microbiana visa a correta caracterização e seleção de microrganismos isolados de fontes com elevada concentração de matéria orgânica, considerando condições ideais de pH, temperatura e substratos para o desenvolvimento microbiano e expressão, resultando na produção do metabólito e da enzima específica (OLICÓN-HERNÁNDEZ et al., 2022).

A ausência da valorização das estratégias de bioprospecção e biotecnologia observada destaca a importância de pesquisas que explorem o potencial do bioprocesso de BA como uma fonte de microrganismos produtores de metabolitos ativos, como enzimas. Neste contexto, destaca-se que não foram encontrados estudos que avaliassem o bioprocesso de BA como uma fonte de microrganismos produtores de enzimas hidrolíticas. Diante desse cenário, esta revisão evidencia o bioprocesso de BA como possível fonte significativa de microrganismos produtores de enzimas hidrolíticas. De forma a destacar a presença desses microrganismos potenciais em uma ampla variedade de substratos, processos e variáveis físico-químicas.

4.2 ENZIMAS HIDROLÍTICAS INDUSTRIAIS DE ORIGEM MICROBIANA

As enzimas hidrolíticas industriais de origem microbiana, como amilases, celulases, xilanases, lipases e proteases, são recursos valiosos com amplo potencial biotecnológico, explorados em uma variedade de indústrias (THAPA et al., 2019).

As propriedades catalíticas dessas enzimas na hidrólise de substratos específicos, quando combinadas aos contínuos avanços em engenharia genética e biotecnologia, proporcionam oportunidades promissoras e inovadoras para o aprimoramento e desenvolvimento de produtos; e processos industriais mais eficientes e sustentáveis.

Essa combinação entre pesquisa e aplicação industrial de enzimas impulsiona significativamente a inovação, promovendo uma abordagem mais eficaz e ecológica para diversas necessidades industriais (CHAPMAN; ISMAIL; DINU, 2018; THAPA et al., 2019).

4.2.1 Amilases

As amilases catalisam a hidrólise de ligações glicosídicas nos polissacarídeos. Pertencendo à classe das hidrolases (EC 3) e à subclasse das glicosilases (EC 3.2), essas enzimas são classificadas conforme seu modo de ação em endoamilases e exoamilases (FAROOQ et al., 2021). Conforme descrito na literatura, as amilases são produzidas por



bactérias como Bacillus alvei, Bacillus brovis, Bacillus cereus, Bacillus licheniformis, Bacillus megaterium, Bacillus pumilus, Clostridium sp., Staphylococcus sp. e Proteus sp. (FAROOQ et al., 2021; HOSSAIN et al., 2020; ŁABA; PIEGZAA; KAWA-RYGIELSKA, 2017; MOHAN et al., 2019). Assim como por fungos, como Saccharomycopsis fibuligera e Rhizopus stolonifer (ALMUHAYAWI et al., 2023; FAROOQ et al., 2021; MOHAN et al., 2019).

As endoamilases catalisam a hidrólise de ligações glicosídicas no interior do polímero, liberando oligossacarídeos. Destaca-se entre essas enzimas a α-amilase (EC 3.2.1.1), que catalisa a hidrólise de ligações 1,4-α- D -glicosídicas nas cadeias de amilopectina e amilose, liberando uma variedade de produtos, incluindo glicose, maltose, maltotriose, maltotetraose, maltopentaose e maltohexaose (FAROOQ et al., 2021).

A α-amilase destaca-se pelo seu significativo potencial biotecnológico e pela crescente aplicação industrial. Essa enzima, é amplamente utilizada na indústria devido à sua versatilidade e eficácia em uma variedade de processos. Na indústria de amido, desempenha um papel fundamental na etapa de liquefação, onde é responsável por o hidrolisar o amido em moléculas menores, facilitando processos subsequentes. No setor de biocombustíveis, a α-amilase é essencial no processo de produção de etanol, onde converte o amido em açúcares fermentescíveis, um passo fundamental na produção de biocombustíveis sustentáveis. Na indústria farmacêutica, sua aplicação é diversificada, desde a produção de ciclodextrina até a formulação de tônicos digestivos, destacando-se como uma ferramenta importante em processos de síntese e formulação. Além disso, na panificação, a presença da α-amilase é essencial para a fermentação da massa, resultando em produtos finais com textura e sabor desejados, além de potencializar a reação de Maillard, que confere cor e aroma característicos aos produtos assados. Essas diversas aplicações ressaltam a importância da α-amilase como uma enzima chave em uma variedade de segmentos industriais, destacando sua relevância e impacto significativo na produção industrial (SAINI et al., 2017).

Entre as espécies de microrganismos produtores de amilase, as bactérias do gênero *Bacillus* destacam-se como uma fonte promissora para a produção de α-amilase de aplicação em escala industrial, devido ao seu alto potencial biotecnológico (MOVAHEDPOUR et al., 2022; YASSIN; JIRU; INDRACANTI, 2021).

As exoamilases catalisam a hidrólise de ligações glicosídicas α -1,4 e α -1,6, de resíduos externos de glicose presentes tanto na amilose quanto na amilopectina, liberando glicose, maltose e β -dextrinas limites. Destaca-se entre essas enzimas a β -amilase (EC 3.2.1.2), glucana 1,4- α -glicosidase (EC 3.2.1.3) e α -glicosidase (EC 3.2.1.20). A β -amilase catalisa a hidrólise de ligações α -1,4 na extremidade não redutora das moléculas de amilose, amilopectina e glicogênio, liberando maltose. A glucana 1,4- α -glicosidase catalisa a hidrólise de ligações 1,6- α -D-glicosídicas quando a próxima ligação na sequência é 1,4, na extremidade não redutora de resíduos de aminoácidos, liberando β -D-glicose. A α -glicosidase catalisa a hidrólise de ligações 1,4- α -D-glicosídicas na extremidade terminal de resíduos de aminoácidos, liberando α -D-glicose (FAROOQ et al., 2021; HUA et al., 2022).

Entre essas enzimas, a β-amilase destaca-se pelo seu significativo potencial biotecnológico e pela crescente aplicação industrial (FAROOQ et al., 2021; HUA et al., 2022). Essa enzima é amplamente aplicada nas indústrias de amido, cervejeira e de panificação. Na indústria de amido, catalisa a hidrólise do amido liquefeito em maltose, o que aumenta a concentração de maltose. Na indústria cervejeira, catalisa a hidrólise do amido liquefeito em maltose, melhorando a quantidade de açúcares fermentáveis. Na



indústria de panificação, inibe a retrogradação do amido ao encurtar as ligações α -1,4 da amilopectina, retardando o envelhecimento precoce do pão (SILANO et al., 2021).

Entre as espécies de microrganismos produtores de amilase, as bactérias do gênero *Bacillus cereus* destacam-se como uma fonte promissora para a produção de β-amilase de aplicação em escala industrial, devido ao seu alto potencial biotecnológico (NAG et al., 2021).

4.2.2 Celulases

As enzimas celulases catalisam a hidrólise de polímero de celulose. Pertencendo à classe das hidrolases (EC 3) e à subclasse das glicosilases (EC 3.2), essas enzimas são classificadas conforme seu local de atuação no substrato celulósico em exoglucanase, endoglucanase e β-glicosidase (RAINA; KUMAR; SARAN, 2022; SARWAN; BOSE, 2021). Conforme descrito na literatura, as celulases são produzidas por bactérias como *Acidothermus sp.*, *Bacillus cereus*, *Bacteroides sp.*, *Clostridium thermocellum*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella oxytoca*, *Lachnospiraceae sp.*, *Micromonospora sp.*, *Paenibacillus sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Staphylococcus spp.*, *Streptomyces sp.*, *Tepidimicrobium sp.* (AKINTOLA et al., 2019; DE CAMARGO et al., 2023; HOSSAIN et al., 2020; KIM et al., 2018; KORSA et al., 2023; ŁABA; PIEGZAA; KAWA-RYGIELSKA, 2017; MOSTAFA et al., 2020; SUKSONG et al., 2019). Assim como por fungos como *Aspergillus sp.*, *Geotrichum candidum*, *Mucor sp.*, *Penicillium sp.*, *Talaromyces sp.* e *Trichoderma sp.* (AKINTOKUN; ABIBU; OYATOOGUN, 2017; GAD et al., 2022; KORSA et al., 2023; LI et al., 2020; MORAN-AGUILAR et al., 2021).

As exoglucanases atuam na extremidade do polímero de celulose, liberando celooligossacarídeos ou dissacarídeos, como celobiose ou monossacarídeos como glicose (KORSA *et al.*, 2023). Destaca-se entre essas enzimas a glucana 1,4-β-glicosidase (EC 3.2.1.74) e celulose 1,4-β-celobiosidase (EC 3.2.1.91). A glucana 1,4-β-glicosidase catalisa a hidrólise do polímero de celulose, liberando glicose diretamente do polímero e a celulose 1,4-β-celobiosidase catalisa a hidrólise do polímero de celulose na extremidade da celulose, liberando celobiose (LI et al., 2021).

Essas enzimas possuem um amplo potencial biotecnológico e crescente aplicação industrial, possuindo uma vasta gama de aplicações em diversos segmentos industriais (LI et al., 2021; ZAFAR et al., 2021). Na indústria de biocombustível, desempenham um papel crucial na conversão de substratos em açúcares fermentescíveis, essenciais para a obtenção de etanol de segunda geração, promovendo uma abordagem sustentável e eficiente na geração de energia. Na indústria de detergente, são utilizadas como aditivo, auxiliando na remoção eficaz de resíduos orgânicos e contribuindo para a eficácia dos produtos de limpeza (NUNES et al., 2020; ZAFAR et al., 2021).

Entre as espécies de microrganismos produtores de celulase, os fungos do gênero *Aspergillus* e *Trichoderma* destacam-se como uma fonte promissora para a produção de glucana 1,4-β-glicosidase e celulose 1,4-β-celobiosidase em escala industrial, devido ao seu alto potencial biotecnológico (ZHANG; ZHAO; BAI, 2018). Além disso, bactérias do gênero *Clostridium* têm atraído significativa atenção científica, em razão da sua capacidade de formar complexos multienzimáticos eficientes na degradação da celulose (ZAFAR et al., 2021).

As endoglucanases catalisam a hidrólise de ligações glicosídicas e se ligam ao componente não cristalino da celulose, hidrolisando seções amorfas através da quebra de cadeia de celulose de locais irregular, liberando polissacarídeos únicos ou oligossacarídeos de diferentes comprimentos (KORSA et al., 2023). Destaca-se entre



essas enzimas 4-(1,3;1,4)-β-D-glucana 4-glucanohydrolase (EC 3.2.1.4) e β-D-glicosídeo glicohidrolase (EC 3.2.1.21). A 4-(1,3;1,4)-β-D-glucana 4-glucanohydrolase catalisa a hidrólise de ligações O-glicosídicas nas regiões internas da estrutura amorfa do polímero de celulose, de maneira randômica, liberando oligossacarídeos (GAVANDE et al., 2023; LI et al., 2021). A β-D-glicosídeo glicohidrolase catalisa a hidrólise de ligações β-D-glicosídicas, nas moléculas de celobiose, liberando monômeros de glicose (KARAM; ELATTAL; KANSOH, 2023; KIM; KWON; CHANG, 2021; KORSA et al., 2023).

Entre essas enzimas a 4-(1,3;1,4)-β-D-glucana 4-glucanohydrolase destaca-se pelo seu significativo potencial biotecnológico e pela crescente aplicação industrial. Esta enzima possui diversas aplicações promissoras. Na indústria têxtil, é utilizada para a remoção de fibras e flocos da superfície de tecidos, conferindo um aspecto mais brilhante e macio ao material. Na indústria vinícola, desempenha um papel crucial no aprimoramento das propriedades aromáticas dos vinhos, liberando compostos aromáticos, como os fenólicos, que possuem capacidades antioxidantes, nutracêuticas e flavorizantes (LI et al., 2018).

Entre as espécies de microrganismos produtores de celulase, os fungos halotolerantes como os do gênero *Aspergillus* destacam-se como uma fonte promissora para a produção de $4-(1,3;1,4)-\beta$ -D-glucana 4-glucanohydrolase em escala industrial, devido ao seu alto potencial biotecnológico (LI et al., 2018).

As β -Glicosidases catalisam a hidrólise da celulose convertendo a celobiose em glicose em glicose. Destaca-se entre essas enzimas a β -D-glicosídeo glucohidrolase (EC 3.2.1.21), que catalisa a hidrólise de ligações β -D-glicosídicas, nas moléculas de celobiose, liberando monômeros de glicose.

A β-D-glicosídeo glucohidrolase destaca-se pelo seu significativo potencial biotecnológico e crescente aplicação industrial. Na indústria vinícola, desempenha um papel crucial no aprimoramento das propriedades aromáticas dos vinhos, ao produzir álcoois monoterpênicos que possuem capacidades flavorizantes. Na indústria de biocombustíveis, esta enzima é fundamental na produção de etanol, devido à sua eficiência catalítica na sacarificação do bagaço de cana-de-açúcar.

Entre as espécies de microrganismos produtores de celulase, o fungo do gênero *Trichoderma* destaca-se como uma fonte promissora para a produção β-D-glicosídeo glucohidrolase em escala industrial, devido ao seu alto potencial biotecnológico (KARAM; ELATTAL; KANSOH, 2023; KIM; KWON; CHANG, 2021; KORSA et al., 2023).

4.2.3 Xilanases

As enzimas xilanases catalisam a hidrólise de ligações glicosídicas entre dois ou mais açúcares ou porções de oligossacarídeos (ALOKIKA; SINGH, 2019; TYAGI; SHARMA, 2021). Pertencendo à classe das hidrolases (EC 3), e subclasse das glicosilases (EC 3.2), essas enzimas são classificadas conforme suas sequências de aminoácidos de estrutura primária, o que reflete a similaridade dos mecanismos de ação. Entre essas enzimas as endoxilanases e β-xilosidases destacam-se como principais enzimas do sistema xilanolítico, responsáveis pela degradação do xilano (ALOKIKA; SINGH, 2019). Conforme descrito na literatura, as xilanases são produzidas por bactérias, como Bacillus amyloliquefaciens, Bacillus cereus, Bacillus circulans, Bacillus licheniformis, Bacillus megatorium, Bacillus pumilus, Bacillus stearothermophilus, Bacillus subtilis, Clostridium absonum, Clostridium thermocellum, Pseudonomas sp., Streptomyces actuosus, Streptomyces cuspidosporus, Streptomyces roseiscleroticus, Streptomyces sp. e



Thermoactinomyces thalophilus (BURLACU; ISRAEL-ROMING; CORNEA, 2016; DE CAMARGO et al., 2023; DHAVER et al., 2022; ŁABA; PIEGZAA; KAWA-RYGIELSKA, 2017; SHAHI et al., 2016), assim como por fungos, como *Aspergillus sp.* e *Trichoderma sp.* (BURLACU; ISRAEL-ROMING; CORNEA, 2016; DHAVER et al., 2022; SHAHI et al., 2016).

As endoxilanases catalisam a hidrólise de ligações glicosídicas, liberando xilooligossacarídeos como xilobiose, xilose e xilotriose com maior grau de polimerização (ALOKIKA; SINGH, 2019). Destaca-se entre essas enzimas a endo-1,4-β-xilanase (EC 3.2.1.8), que catalisa a hidrólise de ligações glicosídicas dentro do xilano, com menor grau de polimerização do substrato, liberando xilose e xilooligossacarídeos (MENDONÇA; BARROCA; COLLINS, 2023).

A endo-1,4- β -xilanase destaca-se pelo seu significativo potencial biotecnológico e crescente aplicação industrial. Essa enzima é de grande importância e aplicabilidade em uma variedade de processos industriais. Na indústria de papel e celulose, essa enzima desempenha um papel crucial no branqueamento da celulose, promovendo a obtenção de produtos finais de alta qualidade. Além disso, seu uso é essencial nas indústrias de panificação e alimentação animal, onde atua na redução da viscosidade da xilana presente nos cereais, melhorando a textura e a qualidade dos produtos finais, bem como facilitando a digestão dos alimentos pelos animais. Essas aplicações destacam a versatilidade e a importância da endo- β -1,4-xilanase como uma ferramenta essencial em processos industriais variados, evidenciando seu papel crucial na otimização de processos e na melhoria da qualidade dos produtos finais (PUCHART; ŠUCHOVÁ; BIELY, 2021).

Os xilooligossacarídeos, provenientes da hidrólise do xilano pela endo-β-1,4-xilanase, são oligômeros de açúcares com ampla aplicabilidade em várias indústrias. Na indústria de alimentos, destacam-se como aditivos funcionais e prebióticos, contribuindo para a melhoria da saúde digestiva e oferecendo benefícios nutricionais (PUCHART; ŠUCHOVÁ; BIELY, 2021; SHARMA; KUMAR, 2013).

Na indústria farmacêutica, os xilooligossacarídeos são amplamente empregados em formulações devido às suas propriedades terapêuticas multifacetadas. Esses compostos apresentam ações antimicrobiana, imunológica e prebiótica, oferecendo benefícios significativos para a saúde. Além disso, destacam-se pela sua capacidade de encapsular medicamentos, permitindo a liberação controlada e direcionada de substâncias ativas no organismo. Essas características fazem dos xilooligossacarídeos componentes essenciais em diversas formulações farmacêuticas, promovendo eficácia terapêutica e melhorando a qualidade dos tratamentos médicos disponíveis (SHARMA; KUMAR, 2013).

Essas aplicações demonstram a versatilidade e o potencial dos xilooligossacarídeos como ingredientes valiosos em produtos alimentícios e farmacêuticos, impulsionando inovações e melhorias nos setores industriais (PUCHART; ŠUCHOVÁ; BIELY, 2021; SHARMA; KUMAR, 2013).

Entre as espécies de microrganismos produtores de xilanase, as bactérias do gênero *Bacillus* e os fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Trichoderma* destacam-se como fontes promissoras para a produção de endo-β-1,4-xilanase em escala industrial, devido ao seu alto potencial biotecnológico (SHARMA; KUMAR, 2013; TYAGI; SHARMA, 2021).

As β-xilosidases catalisam a hidrólise na extremidade não redutora dos xilooligossacarídeos, liberando xilose (ALOKIKA; SINGH, 2019). Destaca-se entre essas enzimas a xilana 1,4-β-xilosidase (EC 3.2.1.37), que catalisa a hidrólise dos xilo-



Artigo recebido: 22/08/2024

Artigo aceito para publicação: 07/10/2024

oligômeros, liberando de D-xilose (AL-ASKAR et al., 2022; MARTÍNEZ-PACHECO et al., 2020; ZHANG et al., 2019).

A xilana 1,4-β-xilosidase destaca-se pelo seu significativo potencial biotecnológico e crescente aplicação industrial. Na indústria de biocombustíveis, essa enzima possui grande potencial para a bioconversão de lignocelulose em açúcares fermentáveis, cruciais para a obtenção de etanol. Na indústria de papel e celulose, desempenha um papel crucial no branqueamento de celulose, melhorando a eficiência e reduzindo o uso de produtos químicos agressivos (AL-ASKAR et al., 2022; MARTÍNEZ-PACHECO et al., 2020; ZHANG et al., 2019).

Entre as espécies de microrganismos produtores de xilanase, as bactérias do gênero *Bacillus* destaca-se como fontes promissoras para a produção de xilana 1,4-β-xilosidase em escala industrial, devido ao seu alto potencial biotecnológico (THAPA et al., 2020).

4.2.4 Lipases

As enzimas lipases catalisam a hidrólise de reações como esterificação (interesterificação e alcoólise), aminólise e hidrólise, liberando ácidos graxos, diacilgliceróis, monoacilgliceróis e glicerol. Pertencendo à classe das hidrolases (EC 3), que atuam nas ligações éster (EC 3.1) de ácidos carboxílicos, essas enzimas são classificadas conforme suas capacidades de catalisar reações de hidrólise em triacilglicerol lipase (EC 3.1.1.3) e carboxilesterase (EC 3.1.1.1) (CHANDRA et al., 2020; SZYMCZAK et al., 2021). Conforme descrito na literatura, as lipases são produzidas por bactérias, como Bacillus subtilis, Bacillus nealsonii, Proteus vulgaris, Pseudomonas alcaligenes, Pseudomonas aeruginosa, Pseudomonas fragi, Pseudomonas fuorescens e Staphylococcus spp. (CHANDRA et al., 2020; MISBAH; KORAICHI; JOUTI, 2021). Assim como por fungos, como Alternaria dianthicola, Aspergillus sp., Colletotrichum gloeosporioides, Curvularia sp., Fusarium sp., Geotrichum candidum, Humicolal anuginosa, Hypocrea pseudokoningii, Macrophomina faseolina, Mucor sp., Penicillium sp., Rhizopus oryzae e Trichoderma viridae (CHANDRA et al., 2020; PATEL, 2020).

A triacilglicerol lipase catalisa a hidrólise de ligações de ésteres de glicerol, liberando diacilglicerol, monoacilglicerol e ácidos graxos livres. A carboxilesterase catalisam a hidrólise de ligações éster únicas, liberando ácidos graxos de baixa massa molar (CHANDRA et al., 2020; SZYMCZAK et al., 2021). Entre essas enzimas a triacilglicerol lipase destaca-se pelo seu significativo potencial biotecnológico e pela crescente aplicação industrial (CHANDRA et al., 2020; SZYMCZAK et al., 2021).

A enantiosseletividade, associada à especificidade dessas enzimas ampliam suas aplicações em diversos segmentos industriais. Nas indústrias de alimentos e farmacêutica, essas enzimas desempenham um papel crucial na manipulação das propriedades sensoriais dos produtos finais, influenciando diretamente o aroma e o sabor. Por meio de sua atividade catalítica seletiva, a triacilglicerol lipase pode ser empregada para ajustar nuances sensoriais desejadas, atendendo às demandas específicas dos consumidores e contribuindo para a excelência na formulação de alimentos e medicamentos (LÓPEZ-FERNÁNDEZ; BENAIGES; VALERO, 2020).

Entre as espécies de microrganismos produtores de lipase, o fungo *Rhizopus oryzae*, destaca-se como uma fonte promissora para a produção de triacilglicerol lipase em escala industrial, devido ao seu alto potencial biotecnológico (LÓPEZ-FERNÁNDEZ; BENAIGES; VALERO, 2020).



4.2.5 Proteases

As enzimas proteases catalisam a hidrólise de proteínas em peptídeos e aminoácidos. Pertencendo à classe das hidrolases (EC 3) e subclasse das peptidases (EC 3.4), essas enzimas são classificadas conforme a posição da ligação peptídica a ser clivada na cadeia peptídica em endopeptidases e exopeptidases (SHARMA et al., 2019). Conforme descrito na literatura, as proteases são produzidas por bactérias, como *Bacillus sp., Enterococcus faecalis, Enterococcus hirae, Longilinea sp., Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus spp.* e *Streptomyces sp.* (DJELLOULI et al., 2021; MARTINS-SILVA et al., 2023; NAVEED et al., 2021; SOLANKI et al., 2021). Assim como por fungos, como *Aspergillus clavatus ES1, Aspergillus flavus, Aspergillus Fumigates, Aspergillus melleus, Aspergillus nidulans HA-10, Aspergillus niger, Aspergillus oryzae, Aspergillus terreus, Cephalosporium sp., Fusarium sp., Geotrichum candidum, Penicillium italicum e Rhizopus sp.(NAVEED et al., 2021; SOLANKI et al., 2021).*

As endopeptidases catalisam a hidrólise de ligações peptídicas dos aminoácidos dentro da proteína, liberando peptídeos mais curtos. Entre essas enzimas destacam-se as subtilisina (EC 3.4.21.62) e colagenase microbiana (EC 3.4.24.3), que compartilham um mecanismo de ação semelhante (BAYKARA; SÜRMELI; ŞANLI-MOHAMED, 2021; DONG; YANG; LEE, 2021; HASNAWI et al., 2024; KIELISZEK et al., 2021; SHARMA et al., 2019).

A subtilisina catalisa a hidrólise de ligações peptídicas com ampla especificidade e com uma preferência por um resíduo de aminoácido grande na extremidade terminal amino (N-terminal), além de catalisar a hidrólise de amidas peptídicas (KHAN et al., 2022; KUMARI et al., 2021). A colagenase microbiana catalisa a hidrólise do colágeno nativo em fragmentos pequenos, nas regiões tripla helicoidais nas ligações peptídicas de preferência da glicina. Essas enzimas possuem significativo potencial biotecnológico e crescente aplicação industrial. (HARAZONO; ATSUMI; SHIRASAKA, 2020).

A subtilisina é considerada com potencial aplicação em uma variedade de processos industriais. Na indústria de alimentos catalisam a hidrólise de ligações peptídicas na rede do glúten melhorando a reologia da massa; a hidrólise de proteínas do soro de leite, realçando o sabor dos produtos (LAMBRÉ et al., 2024). Na indústria de detergentes é utilizada como aditivo por catalisar a hidrólise de compostos que possuem queratina em sua composição, contribuindo para a remoção de manchas (SUJITHA; SHANTHI, 2023).

A colagenase microbiana é considera com potencial aplicação em uma variedade de processos industriais. Na indústria de alimentos catalisa a hidrólise de colágeno e elastina, além de degradar as proteínas do músculo, como actina e miosina, contribuindo para o amaciamento da carne (HARAZONO; ATSUMI; SHIRASAKA, 2020). Nas indústrias de cosméticos e farmacêutica é utilizada como agente desbridante enzimático para o tratamento de lesões da pele, auxiliando no processo de cicatrização (AVILA-RODRÍGUEZ et al., 2020). Essas aplicações demonstram a versatilidade e importância dessa enzima em diferentes setores industriais, impulsionando inovação e eficiência em processos produtivos e terapêuticos (SOLANKI et al., 2021; THAKUR et al., 2018).

Entre as espécies de microrganismos produtores de protease as bactérias *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis* e *Bacillus amyloliquefaciens* destacamse como uma fonte promissora para a produção de subtilisina e colagenase bacteriana em escala industrial, devido ao seu alto potencial biotecnológico (DANILOVA; SHARIPOVA, 2020).



As exopeptidases catalisam a hidrólise de ligações peptídicas nas extremidades C-terminal ou N-terminal, liberando aminoácidos ou dipeptídeos ou tripeptídeos (SHARMA et al., 2019). Destaca-se entre essas enzimas a xaa-pro aminopeptidase (EC 3.4.11.9) e metionil aminopeptidase (EC 3.4.11.18), classificadas conforme o número de aminoácidos liberados de um peptídeo ou proteína e se isso ocorre no C-terminal ou N-terminal (DONG; YANG; LEE, 2021; RAWLINGS, 2020; SHARMA et al., 2019).

A xaa-pro aminopeptidase catalisa a hidrólise de ligações peptídicas N-terminal, liberando prolina e a metionil aminopeptidase catalisa a hidrólise de ligações peptídicas N-terminal, liberando metionina e (DONG; YANG; LEE, 2021).

Entre essas enzimas a metionil aminopeptidase destaca-se pelo seu significativo potencial biotecnológico e pela crescente aplicação industrial (DONG; YANG; LEE, 2021; RAWLINGS, 2020; SHARMA et al., 2019). Essa enzima é considera com potencial aplicação na indústria farmacêutica. Entre as enzimas de interesse biotecnológico, a metionil aminopeptidase destaca-se pelo seu significativo potencial biotecnológico e crescente aplicação industrial (Dong; Yang; Lee, 2021; Rawlings, 2020; Sharma et al., 2019). Essa enzima é considerada promissora para a indústria farmacêutica, onde é utilizada no desenvolvimento de medicamentos antibacterianos e antifúngicos de amplo espectro. A metionil aminopeptidase auxilia na modificação pós-tradução, estabilidade e localização das proteínas e polipeptídeos recém-sintetizados, desempenhando um papel crucial nesses processos (EKPENYONG et al., 2020).

Além de seu uso em tratamentos antibacterianos e antifúngicos, a metionil aminopeptidase tem sido amplamente investigada por seu potencial no desenvolvimento de medicamentos anticancerígenos e anti-reumatoides. A exploração dessa enzima na indústria farmacêutica não apenas sublinha sua importância na biologia molecular, mas também destaca seu potencial como um alvo inovador para terapias futuras. As pesquisas contínuas sobre a metionil aminopeptidase prometem abrir novas fronteiras no tratamento de diversas doenças, reafirmando seu valor como uma ferramenta essencial na biotecnologia e na medicina moderna (EKPENYONG et al., 2020).

Entre as espécies de microrganismos produtores de protease as bactérias dos gêneros *Bacillus*, *Pseudomonas* e *Streptomyces*; e fungos do gênero *Aspergillus* destacam-se como uma fonte promissora para a produção de metionil aminopeptidase em escala industrial, devido ao seu alto potencial biotecnológico (NANDAN; NAMPOOTHIRI, 2020).

5 CONCLUSÃO

Os resultados apresentados nesta revisão demonstraram que a diversidade microbiana encontrada no processo de BA, utilizando diferentes substratos, processos e variáveis físico-químicas representa uma valiosa fonte de enzimas hidrolíticas com elevado potencial industrial. Essa fonte é fundamental para impulsionar avanços na biotecnologia e atender à crescente demanda das indústrias por enzimas de origem microbiana.

Esta revisão identificou a necessidade de mais pesquisas que avaliem o potencial da BA como fonte de microrganismos produtores de enzimas hidrolíticas. Para alcançar benefícios substanciais para a biotecnologia industrial, é essencial direcionar esforços futuros ao isolamento e caracterização desses microrganismos em biorreatores anaeróbios operados com diferentes substratos.

REFERÊNCIAS

AB RASID, N. S. et al. Recent advances in green pre-treatment methods of



lignocellulosic biomass for enhanced biofuel production. **Journal of Cleaner Production**, v. 321, p.129038, 2021.

AKINDOLIRE, M. A.; RAMA, H.; ROOPNARAIN, A. Psychrophilic anaerobic digestion: A critical evaluation of microorganisms and enzymes to drive the process. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 161, p. 112394, 2022.

AKINTOLA, A. I. et al. Production and physicochemical properties of thermostable, crude cellulase from enterobacter cloacae IP8 isolated from plant leaf litters of Lagerstroemia indica Linn. **Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences**, v. 8, n. 4, p. 989–994, 2019.

AL-ASKAR, A. A. et al. A Novel Endophytic Trichoderma longibrachiatum WKA55 With Biologically Active Metabolites for Promoting Germination and Reducing Mycotoxinogenic Fungi of Peanut. **Frontiers in Microbiology**, v. 13,p. 772417, 2022.

ALMUHAYAWI, M. S. et al. Enzymatic-Based Hydrolysis of Digested Potato Peel Wastes by Amylase Producing Fungi to Improve Biogas Generation. **Catalysts**, v. 13, n. 5, p. 913, 2023.

ALOKIKA; SINGH, B. Production, characteristics, and biotechnological applications of microbial xylanases. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 103, n. 21, p. 8763–8784, 2019.

ATELGE, M. R. et al. A critical review of pretreatment technologies to enhance anaerobic digestion and energy recovery. **Fuel**, v. 270, n. February, p. 117494, 2020.

AVILA-RODRÍGUEZ, M. I. et al. Practical context of enzymatic treatment for wound healing: A secreted protease approach (review). **Biomedical Reports**, v. 13, n. 1, p. 3–14, 2020.

BAYKARA, S. G.; SÜRMELI, Y.; ŞANLI-MOHAMED, G. Purification and Biochemical Characterization of a Novel Thermostable Serine Protease from Geobacillus sp. GS53. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 193, n. 5, p. 1574–1584, 2021.

BÜCKER, F. et al. Fish waste: An efficient alternative to biogas and methane production in an anaerobic mono-digestion system. **Renewable Energy**, v. 147, p. 798–805, 2020.

BURLACU, A.; ISRAEL-ROMING, F.; CORNEA, C. P. Microbial xylanase: A review SEE PROFILE. **Scientific Bulletin. Series F. Biotechnologies**, v. 20, p. 335–342, 2016.

CHANDRA, P. et al. Microbial lipases and their industrial applications: a comprehensive review. **Microbial cell factories**, v. 19, p. 1-42, 2020.

CHAPMAN, J.; ISMAIL, A. E.; DINU, C. Z. Industrial applications of enzymes: Recent advances, techniques, and outlooks. **Catalysts**, v. 8, n. 6, p. 20–29, 2018.



CONSTANCIO, M. T. L. et al. Exploring the Potential of Two Bacterial Consortia to Degrade Cellulosic Biomass for Biotechnological Applications. **Current Microbiology**, v. 77, n. 10, p. 3114–3124, 2020.

DA SILVA, G. H. et al. Shifts of acidogenic bacterial group and biogas production by adding two industrial residues in anaerobic co-digestion with cattle manure. **Journal of Environmental Science and Health, Part A**, v. 56, n. 14, p. 1503–1511, 2021.

DANILOVA, I.; SHARIPOVA, M. The practical potential of bacilli and their enzymes for industrial production. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, 2020.

DE CAMARGO, B. R. et al. Expression profiling of Clostridium thermocellum B8 during the deconstruction of sugarcane bagasse and straw. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 39, n. 4, p. 1–11, 2023.

DHAVER, P. et al. Isolation, screening, preliminary optimisation and characterisation of thermostable xylanase production under submerged fermentation by fungi in Durban, South Africa. **Mycology**, v. 13, n. 4, p. 271–292, 2022.

DJELLOULI, M. et al. Hydrolysis of Shrimp Cooking Juice Waste for the Production of Antioxidant Peptides and Proteases by Enterococcus faecalis DM19. **Waste and Biomass Valorization**, v. 12, n. 7, p. 3741–3752, 2021.

DONG, Z.; YANG, S.; LEE, B. H. Bioinformatic mapping of a more precise Aspergillus niger degradome. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1–21, 2021.

EKPENYONG, O. et al. Pre-clinical pharmacokinetics, tissue distribution and physicochemical studies of CLBQ14, a novel methionine aminopeptidase inhibitor for the treatment of infectious diseases. **Drug Design, Development and Therapy**, v. 14, p. 1263–1277, 2020.

FAROOQ, M. A. et al. Biosynthesis and industrial applications of α-amylase: a review. **Archives of Microbiology**, v. 203, n. 4, p. 1281–1292, 2021.

FASIM, A.; MORE, V. S.; MORE, S. S. Large-scale production of enzymes for biotechnology uses. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 69, p. 68–76, 2021.

FLORES-MENDOZAA, A. P. et al. Methanogenesis of raw cheese whey: pH and substrate-inoculum ratio evaluation at mesophyll temperature range. **Chemical Technology and Biotechnology**, v. 95, n. 7, p. 1946–1952, 2020.

GAD, A. M. et al. Characterization of Cellulase from Geotrichum candidum Strain Gad1 Approaching Bioethanol Production. **Arabian Journal for Science and Engineering**, v. 47, n. 6, p. 6837–6850, 2022.

GAVANDE, P. V. et al. Multifunctionality and mechanism of processivity of family GH5 endoglucanase, RfGH5_4 from Ruminococcus flavefaciens on lignocellulosic polymers. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 224, p. 1395—

1411, 2023.

HARAZONO, K.; ATSUMI, Y.; SHIRASAKA, N. Safety evaluation of collagenase from Streptomyces violaceoruber. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 113, p. 104645, 2020.

HASNAWI, S. F. et al. Microbial Aspartic Protease: Bio-synthesis, Characteristics, and Emerging Applications: A review. **Journal of Food Science and Technology (Iran)**, v. 21, n. 150, p. 76–94, 2024.

HOSSAIN, T. J. et al. Hydrolytic Exoenzymes Produced by Bacteria Isolated and Identified From the Gastrointestinal Tract of Bombay Duck. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, 2020.

HUA, D. et al. Starch and Cellulose Degradation in the Rumen and Applications of Metagenomics on Ruminal Microorganisms. **Animals**, v. 1212, n. 21, p. 3020, 2022.

JIA, M. L. et al. Expression and characterization of an esterase belonging to a new family via isolation from a metagenomic library of paper mill sludge. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 126, p. 1192–1200, 2019.

JIN, C. et al. Anaerobic digestion: An alternative resource treatment option for food waste in China. **Science of the Total Environment**, v. 779, p. 146397, 2021.

KARAM, E. A. H.; ELATTAL, N. A.; KANSOH, A. L. Bioconversion of Cotton Fibers Wastes to Ethanol by Fungal Cellulases. **Malaysian Journal of Microbiology**, v. 19, n. 3, p. 274–281, 2023.

KHAN, Z. et al. Characterization of the genome and serine protease of a novel Bacillus subtilis isolate. **Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology**, v. 115, n. 2, p. 281–295, 2022.

KIELISZEK, M. et al. Characteristics of the proteolytic enzymes produced by lactic acid bacteria. **Molecules**, v. 26, n. 7, 2021.

KIM, E. et al. Comprehensive analysis of microbial communities in full-scale mesophilic and thermophilic anaerobic digesters treating food waste-recycling wastewater. **Bioresource Technology**, v. 259, p. 442–450, 2018.

KIM, E. Y.; KWON, C. W.; CHANG, P. S. Purification and characterization of a novel acid-tolerant and heterodimeric β-glucosidase from pumpkin (Cucurbita moschata) seed. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 132, n. 2, p. 125–131, 2021.

KORSA, G. et al. Microbial cellulase production and its potential application for textile industries. **Annals of Microbiology**, v. 73, n. 13, p.13, 2023.

KUMARI, P. et al. Sortase A: A chemoenzymatic approach for the labeling of cell surfaces. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 118, n. 12, p. 4577–4589, 2021.



ŁABA, W.; PIEGZAA, M.; KAWA-RYGIELSKA, J. Evaluation of brewer's spent grain as a substrate for production of hydrolytic enzymes by keratinolytic bacteria. **Chemical Technology and Biotechnology**, v. 92, n. 6, p. 1389–1396, 2017.

LAMBRÉ, C. et al. Safety evaluation of the food enzyme subtilisin from the genetically modified Bacillus licheniformis strain NZYM-CB. **EFSA Journal**, v. 22, n. 7, p. e887, 2024.

LAMILLA, C. et al. Bioprospecting for extracellular enzymes from culturable Actinobacteria from the South Shetland Islands, Antarctica. **Polar Biology**, v. 40, n. 3, p. 719–726, 2017.

LI, H. et al. Molecular cloning and characterization of a thermostable and halotolerant endo-β-1,4-glucanase from Microbulbifer sp. ALW1. **3 Biotech**, v. 11, n. 5, p. 1–11, 2021.

LI, J. X. et al. Diversity of Cellulase-Producing Filamentous Fungi From Tibet and Transcriptomic Analysis of a Superior Cellulase Producer Trichoderma harzianum LZ117. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 1617, 2020.

LI, Z. et al. The unique GH5 cellulase member in the extreme halotolerant fungus Aspergillus glaucus CCHA is an endoglucanase with multiple tolerance to salt, alkali and heat: prospects for straw degradation applications. **Extremophiles**, v. 22, n. 4, p. 675–685, 2018.

LOHANI, S. P.; HAVUKAINEN, J. Anaerobic Digestion: Factors Affecting Anaerobic Digestion Process. **Energy, Environment, and Sustainability**, p. 343–359, 2018.

LÓPEZ-FERNÁNDEZ, J.; BENAIGES, M. D.; VALERO, F. Rhizopus oryzae lipase, a promising industrial enzyme: Biochemical characteristics, production and biocatalytic applications. **Catalysts**, v. 10, p. 1277, 2020.

MAMINDLAPELLI, N. K. et al. Understanding the substrate mediated microbial community shift within the anaerobic ecosystems via 16S metagenomic studies. **Bioresource Technology Reports**, v. 15, p. 100793, 2021.

MANYI-LOH, C. E.; LUES, R. Anaerobic Digestion of Lignocellulosic Biomass: Substrate Characteristics (Challenge) and Innovation. **Fermentation**, v. 9, n. 775, 2023.

MARTÍNEZ-PACHECO, M. M. et al. Optimization of production of xylanases with low cellulases in Fusarium solani by means of a solid state fermentation using statistical experimental design. **Revista Argentina de Microbiologia**, v. 52, n. 4, p. 328–338, 2020.

MARTINS-SILVA, P. et al. Dispersion and persistence of antimicrobial resistance genes among Staphylococcus spp. and Mammaliicoccus spp. isolated along a swine manure treatment plant. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 30, n. 12, p. 34709–34719, 2023.



MENDONÇA, M.; BARROCA, M.; COLLINS, T. Endo-1,4-β-xylanase-containing glycoside hydrolase families: characteristics, singularities and similarities. **Biotechnology Advances**, v. 65, p. 108148, 2023.

MISBAH, A.; KORAICHI, S. I.; JOUTI, M. A. T. Purification, characterization and immobilization of lipase from proteus vulgaris OR34 for synthesis of methyl oleate. **Microbiology and Biotechnology Letters**, v. 48, n. 4, p. 491–505, 2021.

MOHAN, S. et al. Screening of amylase producing bacteria from soil samples of evergreen and deciduous forest. International Research Journal of Biological Sciences, v. 8, n. 6, p. 1–6, 2019.

MORAN-AGUILAR, M. G. et al. Production of cellulases and xylanases in solid-state fermentation by different strains of Aspergillus niger using sugarcane bagasse and brewery spent grain. **Biochemical Engineering Journal**, v. 172, p. 108060, 2021.

MOSTAFA, Y. S. et al. Erratum: Thermostable cellulase biosynthesis from Paenibacillus alvei and its utilization in lactic acid production by simultaneous saccharification and fermentation. **Open Life Sciences**, v. 15, n. 1, p. 798, 2020.

MOVAHEDPOUR, A. et al. A brief overview on the application and sources of α -amylase and expression hosts properties in order to production of recombinant α -amylase. **Biotechnology and Applied Biochemistry**, v. 69, n. 2, p. 650–659, 2022.

MUHONGO, V. R.; PREGO, G. J.; VALENTIM, A. F. Production of Biogas and Electric Energy in the Rural Environment. **International Journal of Sustainable and Green Energy**, v. 11, n. 4, p. 66–74, 2022.

NAG, M. et al. Regulation of β-amylase synthesis: a brief overview. **Molecular Biology Reports**, v. 48, n. 9, p. 6503–6511, 2021.

NANDAN, A.; NAMPOOTHIRI, K. M. Therapeutic and biotechnological applications of substrate specific microbial aminopeptidases. **Applied Microbiology and**

Biotechnology, v. 104, n. 12, p. 5243–5257, 2020.

NAVEED, M. et al. Protease—A Versatile and Ecofriendly Biocatalyst with Multi-Industrial Applications: An Updated Review. **Catalysis Letters**, v. 151, n. 2, p. 307–323, 2021.

NKUNA, R. et al. Insights into organic loading rates of anaerobic digestion for biogas production: a review. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 42, n. 4, p. 487–507, 2022.

NUNES, N. DA S. et al. Simplex-Centroid Design and Artificial Neural Network-Genetic Algorithm for the Optimization of Exoglucanase Production by Penicillium Roqueforti ATCC 10110 Through Solid-State Fermentation Using a Blend of Agroindustrial Wastes. **Bioenergy Research**, v. 13, n. 4, p. 1130–1143, 2020.

OLICÓN-HERNÁNDEZ, D. R. et al. Fundaments and Concepts on Screening of



Microorganisms for Biotechnological Applications. Mini Review. **Current Microbiology**, v. 79, n. 12, p. 1–8, 2022.

OLUFEMI, F. E.; VERONICA, D.; GODWIN, H. Effect of Anaerobic Co-Digestion on Microbial Community and Biogas Production. **Biosciences, Biotechnology Research Asia**, v. 16, n. 2, p. 391–401, 2019.

OTTONI, J. R. et al. Cultured and uncultured microbial community associated with biogas production in anaerobic digestion processes. **Archives of Microbiology**, v. 204, n. 6, p. 340, 2022.

PASALARI, H. et al. Perspectives on microbial community in anaerobic digestion with emphasis on environmental parameters: A systematic review. **Chemosphere**, v.270, p. 128618, 2021.

PASON, P. et al. One-step biohydrogen production from cassava pulp using novel enrichment of anaerobic thermophilic bacteria community. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 27, p. 101658, 2020.

PATEL, G. B. Isolation, screening and identification of Lipase producing fungi from cotton seed soapstock. **Indian Journal of Science and Technology**, v. 13, n. 36, p. 3762–3771, 2020.

PRAMANIK, S. K. et al. The anaerobic digestion process of biogas production from food waste: Prospects and constraints. **Bioresource Technology Reports**, v. 8, p. 100310, 2019.

PUCHART, V.; ŠUCHOVÁ, K.; BIELY, P. Xylanases of glycoside hydrolase family 30 – An overview. **Biotechnology Advances**, v. 47, p. 107704, 2021.

RAINA, D.; KUMAR, V.; SARAN, S. A critical review on exploitation of agroindustrial biomass as substrates for the therapeutic microbial enzymes production and implemented protein purification techniques. **Chemosphere**, v. 294, p. 133712, 2022.

RAWLINGS, N. D. Twenty-five years of nomenclature and classification of proteolytic enzymes. **Biochimica et Biophysica Acta - Proteins and Proteomics**, v. 1868, p. 140345, 2020.

RESENDE, J. A. et al. Isolation and fermentative activity of rumen anaerobic fungi in dairy cows. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, p. 92–95, 2015. SAINI, R. et al. Amylases: Characteristics and industrial applications. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 6, n. 4, p. 1865–1871, 2017.

SANTOS-MORENO, J. et al. Polar N-terminal Residues Conserved in Type 2 Secretion Pseudopilins Determine Subunit Targeting and Membrane Extraction Steps during Fibre Assembly. **Journal of Molecular Biology**, v. 429, n. 11, p. 1746–1765, 2017.

SARWAN, J.; BOSE, J. C. Importance of microbial cellulases and their industrial applications. **Annals of the Romanian Society for Cell Biology**, v. 25, n. 1, p. 3568–3575, 2021.



SHAHI, N. et al. Xylanase: A Promising Enzyme. **Journal of Chemical Pharmaceutical Research**, v. 8, n. 3, p. 334–339, 2016.

SHARMA, M. et al. A review on microbial alkaline protease: An essential tool for various industrial approaches. **Industrial Biotechnology**, v. 15, n. 2, p. 69–78, 2019.

SHARMA, M.; KUMAR, A. Xylanases: An Overview. **British Biotechnology Journal**, v. 3, n. 1, p. 1–28, 2013.

SHARMA, N. Microbial Xylanases and Their Industrial Applications As Well As Future Perspectives: a Review. **Global Journal of Biology, Agriculture & Health Sciences**, v. 6, n. 3, p. 5–12, 2017.

SILANO, V. et al. Safety evaluation of the food enzyme β-amylase from Bacillus flexus strain AE-BAF. **EFSA Journal**, v. 19, n. 6, p. 1–15, 2021.

SOLANKI, P. et al. Microbial proteases: ubiquitous enzymes with innumerable uses. **3 Biotech**, v. 11, n. 428, p. 1–25, 2021.

SUJITHA, P.; SHANTHI, C. Importance of enzyme specificity and stability for the application of proteases in greener industrial processing- a review. **Journal of Cleaner Production**, v. 425, p. 138915, 2023.

SUKSONG, W. et al. Thermotolerant cellulolytic Clostridiaceae and Lachnospiraceae rich consortium enhanced biogas production from oil palm empty fruit bunches by solid-state anaerobic digestion. **Bioresource Technology**, v. 291, p. 121851, 2019.

SZYMCZAK, T. et al. Various perspectives on microbial lipase production using agrifood waste and renewable products. **Agriculture (Switzerland)**, v. 11, n. 6, p. 540–562, 2021.

THAKUR, N. et al. Proteases: Industrial Applications and Approaches used in Strain Improvement. **Biological Forum – An International Journal**, v. 10, n. 1, p. 158–167, 2018.

THAPA, S. et al. Biochemical Characteristics of Microbial Enzymes and Their Significance from Industrial Perspectives. **Molecular Biotechnology**, v. 61, n. 8, p. 579–601, 2019.

TYAGI, D.; SHARMA, D. Production and Industrial Applications of Xylanase: A Review. **International Journal of Scientific Research & Engineering Trends**, v. 7, n. 3, p. 2395–566, 2021.

WONGFAED, N. et al. Taxonomic and enzymatic basis of the cellulolytic microbial consortium KKU-MC1 and its application in enhancing biomethane production. **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, p. 1–27, 2023.

YADAV, A. N. Microbial biotechnology for bio-prospecting of microbial bioactive



compounds and secondary metabolites. **Journal of Applied Biology and Biotechnology**, v. 9, n. 2, p. 1–6, 2021.

YASSIN, S. N.; JIRU, T. M.; INDRACANTI, M. Screening and Characterization of Thermostable Amylase-Producing Bacteria Isolated from Soil Samples of Afdera, Afar Region, and Molecular Detection of Amylase-Coding Gene. **International Journal of Microbiology**, v. 2021, 2021.

YI, J. et al. Effect of increasing total solids contents on anaerobic digestion of food waste under mesophilic conditions: Performance and microbial characteristics analysis. **PLoS ONE**, v. 9, n. 7, p. e102548, 2014.

YILDIRIM, E. et al. Improvement of biogas potential of anaerobic digesters using rumen fungi. **Renewable Energy**, v. 109, p. 346–353, 2017.

ZAFAR, A. et al. Efficient biomass saccharification using a novel cellobiohydrolase from Clostridium clariflavum for utilization in biofuel industry. **RSC Advances**, v. 11, n. 16, p. 9246–9261, 2021.

ZHANG, F.; ZHAO, X.; BAI, F. Improvement of cellulase production in Trichoderma reesei Rut-C30 by overexpression of a novel regulatory gene Trvib-1. **Bioresource Technology**, v. 247, p. 676–683, 2018.

ZHANG, R. et al. Glycoside Hydrolase Family 39 β-Xylosidases Exhibit β-1,2-Xylosidase Activity for Transformation of Notoginsenosides: A New EC Subsubclass. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 67, n. 11, p. 3220–3228, 2019.

Autor correspondente:

Mirian Pereira Rodarte (mirianpereira.rodarte@ufjf.br) Faculdade de Farmácia.
Universidade Federal de Juiz de Fora.
Rua José Lourenço Kelmer, s/n - São Pedro.
CEP 36036-900. Juiz de Fora – MG, Brasil.

Telefone: +55 32 2102 3802

Conflitos de interesses: Os autores declaram que esta pesquisa não possui relação com nenhuma instituição que envolva conflito de interesse.

Agradecimentos: Os autores gostariam de agradecer o apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), Processo: APQ-02254-23. **Financiamento:** Este trabalho foi apoiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) com apoio financeiro recebido. Processo: APQ-02254-23.