



PRODUÇÃO DE XILANASE POR *Aspergillus aculeatus* URM4653 EM FERMENTAÇÃO SUBMERSA: AVALIAÇÃO DE FONTES DE CARBONO, pH ÓTIMO E PARÂMETROS CINÉTICOS

XYLANASE PRODUCTION BY *Aspergillus aculeatus* URM4653 IN SUBMERGED FERMENTATION: EVALUATION OF CARBON SOURCES, OPTIMAL pH, AND KINETIC PARAMETERS

XYLANASE PRODUCTION BY *Aspergillus aculeatus* URM4653 IN SUBMERGED FERMENTATION: EVALUATION OF CARBON SOURCES, OPTIMAL pH, AND KINETIC PARAMETERS

Apresentação: Comunicação Oral

Liliana Andréa dos Santos¹; Ana Helena Mendonça Resende²; Carolina Beatriz Ribeiro dos Santos³; Geovanna Mergulhão da Silva⁴; Tatiana Souza Porto⁵

DOI: <https://doi.org/10.31692/VIICIAGRO.0187>

RESUMO

As xilanases são enzimas hidrolíticas de grande interesse biotecnológico devido à sua capacidade de degradar o xilano, principal componente da hemicelulose presente na biomassa lignocelulósica, apresentando ampla aplicação nas indústrias de papel e celulose, alimentos, rações, têxtil e produção de biocombustíveis. Entre os microrganismos produtores dessas enzimas, fungos do gênero *Aspergillus* destacam-se pela elevada capacidade de secreção de proteínas extracelulares e adaptação a diferentes substratos. Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi produzir xilanases por *Aspergillus aculeatus* URM4653 em fermentação submersa utilizando bagaço de cana-de-açúcar e farelo de trigo como fontes de carbono, bem como caracterizar parcialmente a enzima produzida. A fermentação foi conduzida em frascos Erlenmeyer contendo solução nutritiva suplementada com 2% (p/v) dos substratos, incubados a 30 °C e 100 rpm por 72 horas. A atividade xilanolítica foi determinada pelo método do ácido 3,5-dinitrossalicílico (DNS), enquanto as proteínas totais foram quantificadas pelo método de Bradford. Também foram avaliados o efeito do pH sobre a atividade enzimática e os parâmetros cinéticos aparentes por regressão não linear da equação de Michaelis-Menten. O bagaço de cana-de-açúcar apresentou maior atividade xilanolítica (1,396 U mL⁻¹), valor 4,8 vezes superior ao obtido com farelo de trigo (0,290 U mL⁻¹). O extrato enzimático produzido nesse substrato também apresentou maior concentração de proteínas totais (0,124 mg mL⁻¹) e atividade específica (11,29 U mg⁻¹). A xilanase apresentou atividade máxima em pH 5,3, mantendo aproximadamente 50% da atividade entre pH 6,0 e 7,0. Os

¹ Doutorado em Engenharia Civil, Universidade Federal Rural de Pernambuco, liliana.andrea.santos@gmail.com

² Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Federal Rural de Pernambuco, anahmresende@gmail.com

³ Mestra em Ciências Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, medvetcarolinabrd@gmail.com

⁴ Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, geovanamergulhao966@gmail.com

⁵ Profa. Dra. Universidade Federal Rural de Pernambuco, tatiana.porto@ufrpe.br

parâmetros cinéticos aparentes foram Km de $4,89 \pm 0,74 \text{ mg mL}^{-1}$ e Vmax de $13,53 \pm 0,57 \text{ U mL}^{-1}$, indicando moderada afinidade da enzima pelo substrato. Os resultados demonstram que o bagaço de cana-de-açúcar constitui uma fonte de carbono eficiente para a produção de xilanases por *A. aculeatus* em fermentação submersa, evidenciando o potencial de aproveitamento desse resíduo agroindustrial para obtenção de enzimas de interesse biotecnológico e contribuindo para o desenvolvimento de processos mais sustentáveis e economicamente viáveis.

Palavras-Chave: Fungo, atividade xilanolítica, bagaço de cana-de-açúcar, resíduos lignocelulósicos.

RESUMEN

Las xilanasas son enzimas hidrolíticas de gran interés biotecnológico debido a su capacidad para degradar el xilano, principal componente de la hemicelulosa presente en la biomasa lignocelulósica, con amplias aplicaciones en las industrias del papel y la celulosa, alimentos, piensos, textil y producción de biocombustibles. Entre los microorganismos productores de estas enzimas, los hongos del género *Aspergillus* se destacan por su elevada capacidad de secreción de proteínas extracelulares y su adaptación a diferentes sustratos. En este contexto, el objetivo de este trabajo fue producir xilanasas mediante *Aspergillus aculeatus* URM4653 en fermentación sumergida utilizando bagazo de caña de azúcar y salvado de trigo como fuentes de carbono, así como caracterizar parcialmente la enzima producida. La fermentación se llevó a cabo en matraces Erlenmeyer que contenían una solución nutritiva suplementada con un 2% (p/v) de los sustratos, incubados a 30 °C y 100 rpm durante 72 horas. La actividad xilanolítica se determinó mediante el método del ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS), mientras que las proteínas totales se cuantificaron por el método de Bradford. También se evaluó el efecto del pH sobre la actividad enzimática y los parámetros cinéticos aparentes mediante regresión no lineal de la ecuación de Michaelis-Menten. El bagazo de caña de azúcar presentó la mayor actividad xilanolítica ($1,396 \text{ U mL}^{-1}$), siendo 4,8 veces superior a la obtenida con salvado de trigo ($0,290 \text{ U mL}^{-1}$). El extracto enzimático obtenido con este sustrato también presentó mayor concentración de proteínas totales ($0,124 \text{ mg mL}^{-1}$) y mayor actividad específica ($11,29 \text{ U mg}^{-1}$). La xilanasas presentó actividad máxima a pH 5,3, manteniendo aproximadamente el 50% de su actividad entre pH 6,0 y 7,0. Los parámetros cinéticos aparentes fueron un Km de $4,89 \pm 0,74 \text{ mg mL}^{-1}$ y una Vmax de $13,53 \pm 0,57 \text{ U mL}^{-1}$, lo que indica una afinidad moderada de la enzima por el sustrato. Los resultados demuestran que el bagazo de caña de azúcar constituye una fuente de carbono eficiente para la producción de xilanasas por *A. aculeatus* en fermentación sumergida, evidenciando el potencial de aprovechamiento de este residuo agroindustrial para la obtención de enzimas de interés biotecnológico y contribuyendo al desarrollo de procesos más sostenibles y económicamente viables.

Palabras Clave: Hongo, actividad xilanolítica, bagazo de caña de azúcar, residuos lignocelulósicos .

ABSTRACT

Xylanases are hydrolytic enzymes of great biotechnological interest due to their ability to degrade xylan, the main component of hemicellulose present in lignocellulosic biomass, with broad applications in the pulp and paper, food, feed, textile, and biofuel industries. Among xylanase-producing microorganisms, fungi of the genus *Aspergillus* stand out because of their high capacity for extracellular protein secretion and their ability to adapt to different substrates. In this context, this study aimed to produce xylanases using *Aspergillus aculeatus* URM4653 under submerged fermentation with sugarcane bagasse and wheat bran as carbon sources, as well as to partially characterize the enzyme produced. Fermentation was carried out in Erlenmeyer flasks containing a nutrient solution supplemented with 2% (w/v) of each substrate and incubated at 30 °C and 100 rpm for 72 h. Xylanase activity was determined using the 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS) method, while total protein concentration was measured by the Bradford assay. The effect of pH on enzyme activity and the apparent kinetic parameters were also evaluated by nonlinear regression using the Michaelis–Menten equation. Sugarcane bagasse exhibited the highest xylanolytic activity (1.396 U mL^{-1}), which was 4.8-fold higher than that obtained with wheat bran (0.290 U mL^{-1}). The crude enzymatic extract produced with sugarcane bagasse also showed the highest total protein concentration (0.124 mg mL^{-1}) and specific activity (11.29 U mg^{-1}). The xylanase displayed maximum activity at pH 5.3 and retained approximately 50% of its maximum activity between pH 6.0 and 7.0. The apparent kinetic parameters were Km of $4.89 \pm 0.74 \text{ mg mL}^{-1}$ and Vmax of $13.53 \pm 0.57 \text{ U mL}^{-1}$, indicating a moderate affinity of the enzyme for the substrate. These results demonstrate that sugarcane bagasse is an efficient carbon source for xylanase production by *A. aculeatus* under submerged

fermentation, highlighting the potential use of this agro-industrial residue for the production of biotechnologically relevant enzymes and contributing to the development of more sustainable and economically viable bioprocesses.

Keywords: Fungus, xylanolytic activity, sugarcane bagasse, lignocellulosic residues.

INTRODUÇÃO

Enzimas são proteínas que atuam como catalisadores biológicos, acelerando reações químicas por meio da redução da energia de ativação, sem alterar o equilíbrio da reação. Devido à sua elevada especificidade catalítica e eficiência, desempenham papel fundamental em diversos processos industriais, incluindo o processamento de alimentos, a produção de biocombustíveis, a indústria farmacêutica e o desenvolvimento de biopesticidas (Gianfreda *et al.*, 1995; Verma *et al.*, 2024; Wahab *et al.*, 2025). Dentre essas enzimas, destacam-se as xilanases, que apresentam ampla aplicação biotecnológica devido à sua capacidade de hidrolisar a hemicelulose, um dos principais componentes da biomassa lignocelulósica.

O xilano é polissacarídeo predominante da fração hemicelulósica da biomassa vegetal e representa uma parcela significativa do carbono orgânico renovável disponível na biosfera. Sua degradação ocorre pela ação coordenada das xilanases, enzimas que catalisam a despolimerização desse heteropolissacarídeo em oligossacarídeos e açúcares simples, os quais são utilizados por bactérias e fungos como importante fonte de carbono e energia (Prade *et al.*, 1996). A hidrólise do xilano é realizada por um complexo enzimático, sendo as principais enzimas envolvidas a endo-1,4- β -xilanase e a β -xilosidase. As xilanases são enzimas hidrolíticas responsáveis pela clivagem das ligações β -1,4-xilosídicas presentes na cadeia principal do xilano, promovendo sua conversão em xilooligossacarídeos e xilose. Essas enzimas apresentam ampla aplicação em setores industriais, como papel e celulose, produção de biocombustíveis, alimentos, rações e têxtil (Kumar *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2023). Essas enzimas podem ser produzidas por diversos organismos, incluindo fungos, bactérias, leveduras, algas marinhas, protozoários, moluscos, crustáceos, insetos e sementes de plantas. Entretanto, os fungos filamentosos constituem a principal fonte comercial de xilanases devido à sua elevada capacidade de produção e secreção dessas enzimas (Polizeli *et al.*, 2005).

Dentre os diversos microrganismos capazes de sintetizar e secretar xilanases para o meio extracelular, destacam-se os fungos filamentosos do gênero *Aspergillus*, reconhecidos por sua elevada eficiência na produção e secreção dessas enzimas, responsáveis pela degradação do xilano (Ncube *et al.*, 2012, Miao *et al.*, 2015). Estudos recentes demonstram o potencial de espécies como *Aspergillus tamarii*, *Aspergillus tubingensis*, *Aspergillus fumigatus* e *Aspergillus flavus* na produção de xilanases com características promissoras para aplicações industriais (Costa *et al.*, 2025;

Vinuthana *et al.*, 2026; Wang *et al.*, 2026; Hashem *et al.*, 2022).

Nesse contexto, a fermentação submersa destaca-se como uma das principais estratégias para a produção dessas enzimas. O processo consiste no cultivo de microrganismos em meio líquido contendo os nutrientes necessários ao crescimento celular e à produção de metabólitos, como enzimas, permitindo o controle de parâmetros como temperatura, pH, aeração e agitação (Pandey *et al.*, 2023). A fermentação submersa (FS) é amplamente empregada na produção de enzimas de interesse industrial, incluindo as xilanases produzidas por fungos filamentosos do gênero *Aspergillus* (Subramaniyan *et al.*, 2002). Apesar dos avanços obtidos na produção e caracterização de xilanases microbianas, ainda são necessários estudos voltados à prospecção de novos microrganismos, ao aproveitamento de resíduos lignocelulósicos como substratos de baixo custo e à obtenção de enzimas com propriedades adequadas para aplicações industriais (Hashem *et al.*, 2022; Costa *et al.*, 2025; Vinuthana *et al.*, 2026).

Diante disso, o objetivo desta pesquisa foi produzir xilanases por *Aspergillus aculeatus* URM4653 em fermentação submersa, utilizando bagaço de cana-de-açúcar e farelo de trigo como fontes de carbono, visando à aplicação em processos biotecnológicos.

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Enzimas lignocelulolíticas

As enzimas lignocelulolíticas têm despertado interesse científico, econômico e industrial devido ao seu potencial de aplicação na produção de biocombustíveis, bioprodutos e outros compostos de alto valor agregado. Essas enzimas atuam na degradação dos principais componentes da biomassa vegetal, considerada uma fonte renovável e abundante de carbono (Nargotra *et al.*, 2023).

Os principais grupos de enzimas lignocelulolíticas são as celulases, responsáveis pela degradação da celulose; as hemicelulases, que atuam na hidrólise da hemicelulose; e as ligninases, que promovem a despolimerização da lignina, facilitando o acesso enzimático aos polissacarídeos estruturais da biomassa. Entre as hemicelulases, destacam-se as xilanases (EC 3.2.1.8), enzimas que catalisam a hidrólise das ligações β -1,4-xilosídicas da xilana, principal polissacarídeo da hemicelulose e um dos principais constituintes da parede celular vegetal (Yu *et al.*, 2019; Pavlova *et al.*, 2026). A ação dessas enzimas promove a degradação da xilana, liberando xilooligossacarídeos e xilose, aumentando a acessibilidade da celulose às celulases e favorecendo a conversão da biomassa lignocelulósica em açúcares fermentescíveis.

Devido a essas características, as xilanases apresentam ampla aplicação industrial, sendo empregadas nos setores de papel e celulose para o branqueamento de polpas, na indústria de alimentos e rações para melhorar a digestibilidade, na indústria têxtil, na produção de xilooligossacarídeos com

propriedades prebióticas e na obtenção de biocombustíveis de segunda geração (Wang *et al.*, 2023; Pavlova *et al.*, 2026). Sua utilização contribui para a redução do consumo de compostos químicos agressivos, tornando os processos industriais mais sustentáveis e com menor impacto ambiental (Gupta; Verma, 2022; Dahiya; Rapoport; Singh, 2024). Sua utilização contribui para a redução do consumo de compostos químicos agressivos, tornando os processos industriais mais sustentáveis e com menor impacto ambiental (Gupta; Verma, 2022; Dahiya; Rapoport; Singh, 2024). Além disso, os avanços da biotecnologia têm possibilitado o desenvolvimento de xilanases com maior termoestabilidade, ampla faixa de atuação em diferentes valores de pH e elevada resistência às condições operacionais dos processos industriais, ampliando sua eficiência e potencial de aplicação em diferentes segmentos industriais (Ariaeenejad et al., 2023; Singh et al., 2024).

Fungos filamentosos como produtores de xilanases

Os fungos filamentosos são um grupo de organismos eucarióticos que atuam principalmente na degradação de matéria orgânica e na ciclagem de nutrientes. Tem ganhado relevância não só pelo seu papel ecológico, como também pelo seu destaque na biotecnologia pela capacidade de produzir enzimas extracelulares, ácidos orgânicos, metabólitos secundários e proteínas para a indústria (Meyer *et al.*, 2020; Baker, 2020; Fütting *et al.*, 2021; Mattam; Chaudhari; Velankar, 2022).

Os fungos filamentosos destacam-se como os principais produtores de xilanases extracelulares, sobressaindo-se os gêneros *Trichoderma*, *Aspergillus* e *Penicillium*. As condições de cultivo influenciam diretamente nessa produção, fatores como o pH, temperatura, composição do meio e a fonte de carbono são fundamentais para a produção. Os resíduos lignocelulósicos mais utilizados como substrato são o bagaço de cana, farelo de trigo e palha de milho, por serem resíduos agrícolas de baixo custo para a produção enzimática (Singhania *et al.*, 2020; Khanahmadi *et al.*, 2021; Huang; Wang; Liu, 2024).

Dentre os fungos filamentosos, o gênero *Aspergillus* destaca-se como um dos mais promissores para a produção de xilanases, em razão de sua elevada capacidade de secreção de enzimas extracelulares e de sua ampla versatilidade metabólica (Costa *et al.*, 2025).

Esse gênero encontra-se amplamente distribuído no ambiente, podendo ser encontrado no solo, alimentos, substratos orgânicos e resíduos vegetais. Diversas espécies de *Aspergillus* foram estudadas e destacadas como produtoras de enzimas lignocelulolíticas, sendo os principais o *Aspergillus aculeatus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus terreus*, *Aspergillus tubingensis* e *Aspergillus flavus*. Esse gênero possui como principais características para destaque biotecnológico, elevada capacidade de crescimento, versatilidade metabólica, facilidade de cultivo e adaptabilidade a diferentes condições ambientais (Cairns *et al.*,

2021; Meghwal; Goswami, 2021; Fernández-González *et al.*, 2022; Kumar *et al.*, 2023).

O *Aspergillus* é considerado como uma das principais fontes de microrganismos para obtenção de xilanes à nível industrial, sendo uma das principais alternativas para a obtenção de um processo biotecnológico econômico e sustentável (Gupta; Verma, 2022; SINGH *et al.*, 2024; Dahiya; Rapoport; Singh, 2024; Muthukumaran *et al.*, 2024).

Produção de xilanases por processos fermentativos

A produção microbiana de xilanases pode ser realizada por fermentação submersa (FS) ou fermentação em estado sólido (FES). A FS caracteriza-se pelo cultivo dos microrganismos em meio líquido contendo nutrientes dissolvidos, permitindo maior controle operacional de parâmetros como pH, temperatura, oxigenação e concentração de nutrientes. Essas características favorecem a reprodutibilidade do processo, a transferência de massa e a aplicação em biorreatores industriais, tornando a FS uma das principais estratégias empregadas para produção comercial de enzimas (Motta; Andrade; Santana, 2013; Abena *et al.*, 2024).

Embora a FS frequentemente apresente elevadas produtividades enzimáticas e utilize resíduos sólidos diretamente como substrato, a FS oferece vantagens relacionadas ao monitoramento do cultivo, escalonamento industrial e recuperação do produto, sendo amplamente utilizada na produção de enzimas fúngicas de interesse biotecnológico. Além disso, resíduos lignocelulósicos podem ser incorporados ao meio líquido na forma de partículas, hidrolisados ou extratos, atuando simultaneamente como fonte de carbono e indutores da biossíntese enzimática (Knob *et al.*, 2010; Abena *et al.*, 2024).

Os fungos do gênero *Aspergillus* destacam-se entre os principais produtores de xilanases em sistemas submersos devido à elevada capacidade de secreção extracelular de proteínas e à adaptação a diferentes fontes de carbono. Estudos recentes demonstram o potencial da espécie *Aspergillus* para produção de xilanases em FS utilizando substratos lignocelulósicos de baixo custo. Costa *et al.* (2025), por exemplo, demonstraram a bioconversão eficiente de farelo de trigo em xilanases por *Aspergillus tamarii* URM3266 em FS, destacando o potencial desse resíduo como indutor natural da produção enzimática. Da mesma forma, estudos com *Aspergillus niger* evidenciam que o farelo de trigo promove maiores atividades xilanolíticas quando comparado a outras fontes de carbono, devido ao elevado teor de arabinoxilanas presentes em sua composição.

Entre os resíduos agroindustriais mais empregados na produção de xilanases destacam-se o farelo de trigo e o bagaço de cana-de-açúcar. O farelo de trigo apresenta elevada concentração de hemicelulose, especialmente arabinoxilanas, que atuam como indutores da expressão de genes

relacionados à produção de xilanases. Já o bagaço de cana-de-açúcar constitui um dos resíduos lignocelulósicos mais abundantes em países produtores de açúcar e etanol, apresentando significativa fração de hemicelulose passível de aproveitamento biotecnológico. Além do baixo custo e ampla disponibilidade, esses materiais contribuem para a redução dos custos do meio de cultivo e para a valorização de resíduos agroindustriais, alinhando a produção enzimática aos princípios da economia circular e da bioeconomia sustentável (Van Craeyveld *et al.*, 2010; Yadav *et al.*, 2022; Sosa-Martínez *et al.*, 2023).

A utilização de resíduos lignocelulósicos como fonte de carbono para *Aspergillus* em FS representa uma alternativa promissora para obtenção de xilanases de interesse industrial. Essa estratégia associa a valorização de resíduos abundantes à produção de bioprodutos de alto valor agregado, contribuindo para o desenvolvimento de processos biotecnológicos mais sustentáveis e economicamente viáveis.

METODOLOGIA

Obtenção do Microrganismo

O fungo *Aspergillus aculeatus* URM4953 foi obtido da coleção de cultura da Universidade Federal de Pernambuco. O microrganismo foi reativado em solução nutritiva (10g de peptona, 3g de extrato de carne e 20g de glicose para 100 mL de água destilada) e colocado em frasco Erlenmeyer de 125 mL contendo meio Czapek (Klich, 2002), esterilizado (121°C/20 min) e incubados a 30°C por 7 dias em estufa microbiológica.

Seleção do meio de cultura para fermentação

Foram avaliados dois resíduos lignocelulósicos como fontes de carbono para a produção de xilanases por *Aspergillus aculeatus* URM4953 em FS: farelo de trigo e bagaço de cana-de-açúcar. O farelo de trigo foi adquirido no comércio local da cidade de Recife, Pernambuco, Brasil, enquanto o bagaço de cana-de-açúcar foi obtido de uma indústria sucroalcooleira localizada em Vitória de Santo Antão, Pernambuco, Brasil. A seleção teve como objetivo identificar o substrato mais adequado para a produção enzimática.

Produção de enzimas por FS

O experimento foi realizado em duplicata, utilizando frascos Erlenmeyer de 250 mL contendo 1,25 g de cada fonte de carbono, aos quais foram adicionados 50 mL de solução nutritiva previamente esterilizada. Para a obtenção do inóculo, adicionou-se 5 mL de solução salina estéril contendo Tween 80 (0,01%) sobre a superfície de uma cultura prévia do microrganismo, após 7 dias de cultivo. Uma

alíquota de 10 µL desta suspensão foi transferida para uma câmara de Neubauer para a contagem e padronização dos esporos. Posteriormente, cada frasco contendo o meio de fermentação foi inoculado com 0,78 mL da suspensão de esporos na concentração de 10^6 esporos/mL. O material foi incubado em agitador orbital a 30 °C e 100 rpm por 72 horas. Ao término da fermentação, o meio foi filtrado em gaze estéril e o filtrado obtido foi centrifugado a 4000 rpm por 5 minutos. O sobrenadante resultante foi coletado e utilizado como extrato enzimático bruto. Todos os experimentos subsequentes foram realizados em duplicata, e os dados são apresentados como média de desvio padrão.

Atividade xilanolítica

Para determinar a atividade enzimática foi utilizado o método do ácido 3,5 dinitrosalicílico (DNS) para açúcares redutores (Bailey *et al.*, 1992) utilizando xilana 1% (m/v) preparada em tampão citrato pH 5,3 (0,1 M) como substrato. Foram adicionados, em tubos de ensaio, 450 µL da solução de substrato e 50 µL do extrato enzimático. A mistura reacional foi incubada em banho-maria a 50 °C por 5 minutos e, em seguida, 750 µL de reagente ácido 3,5-dinitrossalicílico (DNS) foram adicionados a cada tubo, que foi fervida por 5 minutos e resfriada em banho de gelo. As leituras de absorbância foram feitas em espectrofotômetro (UV/VIS) a 540 nm. Uma unidade de atividade enzimática (U) foi definida como a quantidade de enzima capaz de liberar 1 µmol de equivalentes de xilose por minuto.

Determinação de proteínas totais e atividade específica da xilanase

A quantificação de proteínas totais solúveis do extrato enzimático bruto foi realizada pelo método de Bradford (1976). O reagente de Bradford foi preparado pela dissolução de 100 mg de Coomassie Brilliant Blue G-250 em 50 mL de etanol 95%, seguida da adição de 100 mL de ácido fosfórico 85% (H₃PO₄). Para a determinação proteica, 50 µL das amostras foram misturadas a 1,5 mL do reagente de Bradford em triplicata. Após incubação de 5 minutos em temperatura ambiente e sem contato com a luz, as leituras de absorbância foram efetuadas em espectrofotômetro a 595 nm. A curva de calibração foi construída utilizando albumina de soro bovino (BSA) como padrão. A concentração de proteínas totais foi calculada a partir da equação da reta obtida por regressão linear da curva de calibração ($R^2 \geq 0,99$). A atividade específica da xilanase foi determinada pela razão entre a atividade enzimática (U mL⁻¹) e a concentração de proteínas totais (mg mL⁻¹), sendo expressa em unidades de atividade por miligrama de proteína (U mg⁻¹).

Efeito do pH

O efeito do pH sobre a atividade xilanolítica foi avaliado utilizando o extrato enzimático obtido a partir da FS do bagaço de cana-de-açúcar, uma vez que este substrato apresentou a maior

atividade de xilanase nos ensaios de seleção da fonte de carbono.

O efeito do pH sobre a atividade foi avaliado na faixa de pH de 2,0 a 9,0, utilizando diferentes tampões. Adicionalmente, foi incluído o ensaio em pH 5,3, por corresponder à faixa em que a enzima apresentou maior atividade, permitindo a determinação do pH ótimo.

Para os ensaios conduzidos entre pH 2,0 e 6,0, foi utilizado o tampão citrato de sódio 0,1 M; entre pH 6,0 e 8,0, tampão fosfato de sódio 0,1 M; e entre pH 8,0 e 9,0, tampão Tris-HCl 0,1 M. A atividade xilanólica foi determinada conforme descrito anteriormente.

Parâmetros cinéticos

Para a determinação dos parâmetros cinéticos Michaelis-Menten (K_m) e da velocidade máxima de reação (V_{max}), a atividade enzimática foi avaliada sob diferentes concentrações de substrato (1-25 mg/mL). Os parâmetros cinéticos da equação de Michaelis-Menten, incluindo K_m e V_{max} , foram estimados por ajuste não linear dos dados experimentais utilizando o software OriginPro® 2021 (OriginLab Corporation, Northampton, MA, EUA).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram avaliados como fonte de carbono o bagaço de cana-de-açúcar e o farelo de trigo para a produção de xilanases por *Aspergillus aculeatus* URM4653 em FS. O objetivo foi identificar a fonte de carbono mais promissora para a indução da produção de enzimas xilanólicas (Figura 01).

Figura 01: Substrato de cana de açúcar e farelo de trigo (A) e determinação da atividade xilanólica. Seta indicando o controle negativo (B).



Fonte: Própria (2026).

O bagaço de cana-de-açúcar obteve maior atividade xilanólica ($1,396 \text{ U mL}^{-1}$), sendo 4,8 vezes superior ao farelo de trigo ($0,290 \text{ U mL}^{-1}$), mostrando seu potencial como indutor na produção de xilanases por *Aspergillus aculeatus* URM4653. O resultado pode estar relacionado à composição

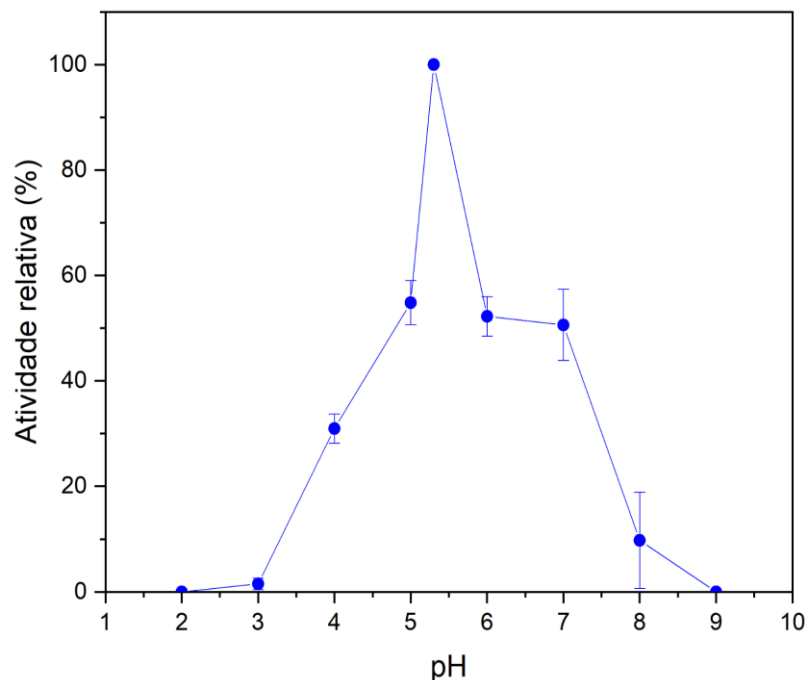
de fibras (hemicelulose) do resíduo. Santos *et al.* (2026), ao caracterizarem o mesmo bagaço de cana-de-açúcar utilizado neste estudo, determinaram teor de hemicelulose de 21,01%, indicando elevada disponibilidade de xilana, principal indutora da produção de enzimas hemicelulolíticas. Além de atuar como um eficiente indutor da produção de xilanases, a elevada concentração de celulose e hemicelulose torna o bagaço de cana-de-açúcar uma matéria-prima promissora para biorrefinarias, favorecendo a obtenção de açúcares fermentescíveis, biocombustíveis de segunda geração e outros bioprodutos de alto valor agregado (Abdel-Hafeez *et al.*, 2026). No mesmo estudo, os autores relataram atividade xilanolítica de $16,76 \pm 0,01$ U mL⁻¹ para *Aspergillus japonicus* URM5242, valor superior ao observado para *A. aculeatus* URM4653 no estudo. Resultados similares foram reportados por Monclaro *et al.* (2022), que obtiveram atividade xilanolítica de 1,95 U mL⁻¹ utilizando bagaço de cana-de-açúcar como substrato para o cultivo de *Aspergillus tamaraii* em FS. Os valores obtidos nos dois estudos reforçam o potencial do bagaço de cana-de-açúcar como fonte de carbono e indutor da produção de xilanases por espécies do gênero *Aspergillus*. Em contraste, Costa *et al.* (2025) observaram que o farelo de trigo foi a fonte de carbono mais eficiente para a produção de xilanases por *Aspergillus tamaraii* URM3266 em FS, quando comparado com outros resíduos agroindustriais, como o bagaço de cana-de-açúcar. Apesar disso, os resultados obtidos no estudo demonstram que o bagaço de cana-de-açúcar é uma fonte de carbono promissora para a produção de xilanases com potencial de aplicação biotecnológica e ambiental. Além disso, trata-se de um resíduo abundante, gerado em grandes quantidades pelas usinas sucroalcooleiras e de baixo custo, características que favorecem sua utilização como substrato em processos industriais.

O teor de proteínas totais e a atividade específica do extrato enzimático bruto também foram influenciados pela fonte de carbono utilizada. O extrato obtido a partir do bagaço de cana-de-açúcar apresentou maior concentração de proteínas totais (0,124 mg mL⁻¹) e maior atividade específica (11,29 U mg⁻¹) em comparação ao farelo de trigo (0,062 mg mL⁻¹ e 4,64 U mg⁻¹, respectivamente). Esses resultados indicam que o bagaço de cana favoreceu não apenas a secreção de proteínas extracelulares, mas também a produção de um extrato com maior eficiência catalítica. Izidoro *et al.* (2014) também observaram que a atividade específica da xilanase produzida por *Aspergillus niger* variou em função da fonte de carbono e das condições de cultivo, destacando que esse parâmetro representa um indicador mais adequado da eficiência do processo enzimático do que a determinação isolada da concentração de proteínas totais.

Efeito do pH sobre a atividade da xilanase

O efeito do pH sobre a atividade relativa da xilanase produzida por *Aspergillus aculeatus* URM4653 foi avaliado na faixa de pH de 3,0 a 9,0 (Figura 02).

Figura 02: Atividade relativa da xilanase produzida por *Aspergillus aculeatus* URM4653 em diferentes valores de pH (2,0–9,0)



Fonte: Própria (2026).

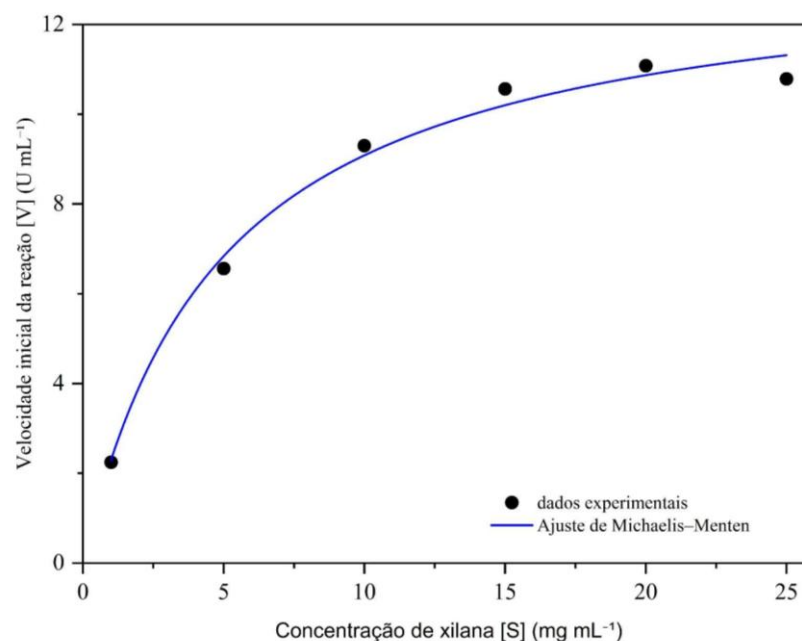
A enzima apresentou atividade relativa máxima (100%) em pH 5,3, caracterizando esse valor como o pH ótimo. Observou-se aumento gradual da atividade entre os valores de pH 3,0 e 5,3, seguido de redução progressiva em valores de pH superiores. Apesar dessa redução, a xilanase manteve aproximadamente 50% da atividade máxima em pH 6,0 e 7,0, indicando que a enzima ainda apresenta atividade catalítica significativa em condições próximas à neutralidade. Em pH 8,0 e 9,0, a atividade enzimática diminuiu acentuadamente, evidenciando que valores mais elevados de pH comprometem a eficiência catalítica da enzima. Esse comportamento pode ser atribuído às alterações no estado de ionização dos resíduos de aminoácidos presentes no sítio ativo, afetando a interação entre a enzima e o substrato (Vinuthana *et al.*, 2026). Resultados similares foram obtidos por outros autores para xilanases produzidas por fungos do gênero *Aspergillus*. Costa *et al.* (2025) também relataram pH

ótimo de 5,3 para uma xilanase produzida por *Aspergillus tamarii*, URM3266 enquanto Wang *et al.* (2026) observaram atividade máxima em pH 5,0 para uma xilanase produzida por *Aspergillus tubingensis*. Outros autores, destacaram que a maioria das xilanases fúngicas apresenta pH ótimo na faixa de 4,5 a 6,0 (Dhaver *et al.*, 2022).

Determinação dos parâmetros cinéticos da xilanase produzida

Os parâmetros cinéticos aparentes K_m e V_{max} da xilanase produzida por *Aspergillus aculeatus* URM 4653 em FS foram estimados por regressão não linear da equação de Michaelis-Menten. O modelo apresentou bom ajuste aos dados experimentais, com coeficiente de determinação (R^2) de 0,99 (Figura 03).

Figura 03. Curva de Michaelis-Menten da xilanase produzida por *Aspergillus aculeatus* URM 4653 utilizando xilana de bétula como substrato em diferentes concentrações, empregada para determinação dos parâmetros cinéticos K_m e V_{max} .



Fonte: Própria (2026).

Os valores de V_{max} aparente e K_m aparente foram de $13,53 \pm 0,57 \text{ U mL}^{-1}$ e $4,89 \pm 0,74 \text{ mg mL}^{-1}$, respectivamente. Esses resultados indicam moderada afinidade da xilanase produzida por *Aspergillus aculeatus* URM 4653 pela xilana. O valor de K_m aparente foi semelhante ao relatado por Costa *et al.* (2025) para a xilanase produzida por *Aspergillus tamarii* URM3266 cultivado em farelo de trigo ($5,08 \text{ mg mL}^{-1}$). Valores de K_m próximos também foram relatados por Hashem *et al.* (2022),

que obtiveram 5,68 mg mL⁻¹ para xilanases produzidas por *Aspergillus flavus* utilizando sabugo de milho como substrato em fermentação. Em contrapartida, Wang *et al.* (2026) determinaram menor valor de Km (2,59 ± 0,17 mg mL⁻¹) para a enzima produzida por *Aspergillus japonicus*, indicando maior afinidade da enzima pelo substrato em relação à observada no estudo. Diante disso, os parâmetros cinéticos obtidos indicam o potencial da enzima produzida por *Aspergillus aculeatus* URM4653 para aplicações biotecnológicas.

CONCLUSÕES

Os resultados demonstraram que *Aspergillus aculeatus* URM4653 é capaz de produzir xilanases em fermentação submersa utilizando resíduos lignocelulósicos como fonte de carbono. O bagaço de cana-de-açúcar foi o substrato mais eficiente, promovendo maior atividade xilanolítica, concentração de proteínas totais e atividade específica quando comparado ao farelo de trigo. A enzima apresentou atividade máxima em pH 5,3 e os parâmetros cinéticos indicaram moderada afinidade pelo substrato. Assim, o bagaço de cana-de-açúcar mostra-se uma alternativa promissora e de baixo custo para a produção de xilanases com potencial de aplicação em processos biotecnológicos e no aproveitamento sustentável de resíduos agroindustriais.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-HAFEEZ, A. A. A.; KHALIL, A. R. M.; HASSAN, E. A.; ELSAYED, M. A.; EL-BANNA, T. E. G.; ELKADY, I. A. Purification and characterization of xylanase by *Aspergillus krugeri* AUMC 15912 utilizing sugarcane bagasse under solid-state fermentation conditions. **BMC Microbiology**, v. 26, p. 164, 2026.
- ABENA, T.; MTEI, K.; NDAKIDEMI, P.; CHACHA, M. A review on xylanase sources, classification, mode of action, fermentation processes and applications as a promising biocatalyst. **Biotechnology Reports**, v. 44, p. e00877, 2024. DOI: 10.1016/j.btre.2024.e00877.
- ARIAEENEJAD, S.; HOSSEINI, E.; MALMIR, M.; KAVOUSI, K. Recent advances in protein engineering of xylanases for industrial applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 240, p. 124449, 2023.
- BAILEY, M. J.; BIELY, P.; POUTANEN, K. Interlaboratory testing of methods for assay of xylanase activity. **Journal of Biotechnology**, v. 23, p. 257-270, 1992. DOI: 10.1016/0168-1656(92)90074-J.
- BAKER, S. E. Grand Challenges in Fungal Biotechnology. **Frontiers in Fungal Biology**, v. 1, p. 626551, 2020. DOI: 10.3389/ffunb.2020.626551.
- BASERA, P.; CHAKRABORTY, S.; SHARMA, N. Lignocellulosic biomass: insights into enzymatic hydrolysis, influential factors, and economic viability. **Discover Sustainability**, v. 5, p. 311, 2024.
- BENATTI, A. L. T.; POLIZELI, M. L. T. M. Lignocellulolytic Biocatalysts: The Main Players Involved in Multiple Biotechnological Processes for Biomass Valorization. **Microorganisms**, v. 11, n. 1, p. 162, 2023.

BHARDWAJ, N.; KUMAR, B.; VERMA, P. Production and industrial applications of xylanases: an overview. **Bioresource Technology Reports**, v. 15, p. 100745, 2021.

Bradford, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-254, 1976.

CAIRNS, T. C.; FEKETE, E.; BENNETT, J. W.; MEYER, V. Engineering of primary carbon metabolism in filamentous fungi. **Biotechnology Advances**, v. 43, p. 107551, 2020. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2020.107551.

CAIRNS, T. C.; NAIK, V.; MEYER, V. The road to systems biology of *Aspergillus*. **Fungal Biology and Biotechnology**, v. 8, n. 1, p. 1-17, 2021.

COSTA, B. A. M.; OLIVEIRA, T. M.; PORTO, T. S. I. Optimized xylanase production by *Aspergillus tamaraii* URM3266 in submerged fermentation using wheat bran as a lignocellulosic inducer. **Preparative Biochemistry & Biotechnology**, 2025. DOI: 10.1080/10826068.2025.2609904.

COSTA, B. A. M.; OLIVEIRA, T. M.; PORTO, T. S. Optimized xylanase production by *Aspergillus tamaraii* URM3266 in submerged fermentation using wheat bran as a lignocellulosic inducer. **Preparative Biochemistry & Biotechnology**, 2025. DOI: 10.1080/10826068.2025.2609904.

DAHIYA, S.; RAPOPORT, A.; SINGH, B. Biotechnological Potential of Lignocellulosic Biomass as Substrates for Fungal Xylanases and Its Bioconversion into Useful Products: A Review. **Fermentation**, v. 10, n. 2, p. 82, 2024.

DHAVER, P.; PLETSCHKE, B.; SITHOLE, B.; GOVINDEN, R. Optimization, purification, and characterization of xylanase production by a newly isolated *Trichoderma harzianum* strain by a two-step statistical experimental design strategy. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 17791, 2022. DOI: 10.1038/s41598-022-22389-4.

FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, A. J.; MARTÍNEZ, C.; GUTIÉRREZ, S.; GARCÍA-ESTRADA, C. Advances in industrial applications of *Aspergillus niger* and related species. **Journal of Fungi**, v. 8, n. 11, p. 1165, 2022.

FÜTING, P.; KERSTEN, R. D.; BAKER, S. E.; MEYER, V. Filamentous fungal applications in biotechnology: a combined bibliometric and patentometric assessment. **Fungal Biology and Biotechnology**, v. 8, n. 23, 2021. DOI: 10.1186/s40694-021-00131-6.

GIANFREDA, L.; SCARFI, M. R. Enzyme stabilization: state of the art. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 100, n. 2, p. 97–128, 1991.

GUPTA, S.; VERMA, A. K. Applications of microbial xylanases in biofuel production and other industries: a review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 158, p. 112164, 2022.

GUPTA, V. K.; KUMAR, A.; SINGH, R.; PANDEY, A. Current status and future prospects of xylanase production from microbial sources. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 193, p. 1840–1855, 2021.

GUPTA, V. K.; VERMA, A. K. Microbial xylanases: industrial applications and future perspectives. **Bioresource Technology Reports**, v. 18, p. 101054, 2022.

HASHEM, A. M.; ELZAIKY, N. H.; MOSTAFA, F. A.; HASHEM, A. M.; ABDEL-NABY, M. A. Thermodynamic characterization of *Aspergillus flavus* KP998209 xylanase, production optimization with statistical optimization. **Egyptian Journal of Chemistry**, v. 65, n. 7, p. 659-668, 2022. DOI: 10.21608/ejchem.2021.108800.4973.

- HUANG, J.; WANG, J.; LIU, S. Advances in the Production of Fungi-Derived Lignocellulolytic Enzymes Using Agricultural Wastes. **Mycology**, v. 15, n. 4, p. 523–537, 2024.
- IZIDORO, S. C.; KNOB, A.; TERRA, W. R.; CARMONA, E. C. Production of xylanases by an *Aspergillus niger* strain in submerged fermentation using agroindustrial products as substrates. **Acta Scientiarum. Technology**, v. 36, n. 2, p. 313–319, 2014. DOI: 10.4025/actascitechnol.v36i2.18683.
- KHANAHMADI, M.; ROOZBEHANI, M.; HOSSEINI, S. M.; GHASEMI, Y. Production and optimization of microbial xylanases using agricultural residues: a review. **Biomass Conversion and Biorefinery**, v. 11, n. 6, p. 2615–2630, 2021.
- KNOB, A.; FORTKAMP, D.; PROLO, T.; IZIDORO, S. C.; ALMEIDA, J. M. Agro-residues as alternative for xylanase production by filamentous fungi. **BioResources**, v. 5, n. 4, p. 2554–2576, 2010.
- KUMAR, R.; SHARMA, A.; SINGH, P.; VERMA, D. Recent advances in microbial xylanase production and industrial applications. **Process Biochemistry**, v. 129, p. 67–81, 2023.
- KUMAR, V.; DANGI, A. K.; SHUKLA, P. Engineering thermostable microbial xylanases toward its industrial applications. **Molecular Biotechnology**, v. 60, n. 3, p. 226–235, 2018.
- KUMAR, V.; SATYANARAYANA, T. Microbial xylanases: industrial applications and biotechnological potential. **Bioresource Technology**, v. 309, p. 123385, 2020.
- LIAN, Z.; ZHOU, X. Lignocellulosic Biomass Decomposition and Bioconversion. **Fermentation**, v. 10, n. 9, p. 480, 2024.
- MATTAM, A. J.; CHAUDHARI, Y. B.; VELANKAR, H. R. Factors regulating cellulolytic gene expression in filamentous fungi: an overview. **Microbial Cell Factories**, v. 21, n. 44, 2022. DOI: 10.1186/s12934-022-01764-x.
- MEGHWAL, M.; GOSWAMI, T. K. Functional and industrial applications of *Aspergillus*-derived enzymes: a review. **Bioresources and Bioprocessing**, v. 8, n. 1, p. 1–18, 2021.
- MEYER, V.; BASENKO, E. Y.; BENNETT, J. W.; BRAUS, G. H.; CADENAS, M. E.; CZECHOWSKA, K.; HADDON, C.; KODAMA, Y.; MARTÍNEZ, A. T.; OBERG, K.; RATTRAY, J. B.; RODRIGUEZ, A.; SCHROECKH, V.; VAILLANT, F.; YADAV, V.; WURST, A. Growing a circular economy with fungal biotechnology: a white paper. **Fungal Biology and Biotechnology**, v. 7, n. 5, 2020. DOI: 10.1186/s40694-020-00095-z.
- MIAO, Y.; LI, J.; XIAO, Z.; et al. Characterization and identification of the xylanolytic enzymes from *Aspergillus fumigatus* Z5. **BMC Microbiology**, v. 15, p. 126, 2015.
- MONCLARO, A. V.; FONTES, P. R.; RECALDE, G. L.; SILVA JÚNIOR, F. G.; FILHO, E. X. F. Evaluation of endoglucanase and xylanase production by *Aspergillus tamaraii* cultivated in agro-industrial lignocellulosic biomasses. **Folia Microbiologica**, v. 67, n. 5, p. 721–732, 2022.
- MOTTA, F. L.; ANDRADE, C. C. P.; SANTANA, M. H. A. A review of xylanase production by the fermentation of xylan: classification, characterization and applications. In: CHANDEL, A. K.; SILVÉRIO DA SILVA, S. (Ed.). Sustainable Degradation of Lignocellulosic Biomass: Techniques, Applications and Commercialization. Rijeka: InTechOpen, 2013. p. 251–276. DOI: 10.5772/53544.
- MUTHUKUMARAN, C.; SENTHILKUMAR, S.; SIVAKUMAR, N.; RAJENDRAN, K. Emerging trends in microbial xylanases for sustainable bioprocesses. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 40, n. 2, p. 45, 2024.
- NARGOTRA, P.; SHARMA, A.; SHARMA, R.; BHATT, A. K. Microbial Lignocellulolytic

Enzymes for the Effective Valorization of Lignocellulosic Biomass: A Review. **Catalysts**, v. 13, n. 1, p. 83, 2023.

NCUBE, T.; HOWARD, R. L.; ABOTSI, E. K.; VAN RENSBURG, E. L. J.; NCUBE, I. Jatropha curcas seed cake as substrate for production of xylanase and cellulase by *Aspergillus niger* FGSCA733 in solid-state fermentation. **Industrial Crops and Products**, v. 37, p. 118–123, 2012.

ØSTBY, H.; VÁRNAI, A. Hemicellulolytic Enzymes in Lignocellulose Processing. **Essays in Biochemistry**, v. 67, n. 3, p. 531–547, 2023.

PANDEY, A. Solid-state fermentation. **Biochemical Engineering Journal**, v. 13, n. 2–3, p. 81–84, 2003.

PAVLOVA, E. Y.; CHESNOKOV, D. O.; SLYNKO, N. M.; ZADOROZHNY, A. V.; UVAROVA, Y. E.; KHLEBODAROVA, T. M.; VASILIEVA, A. R.; SHIPOVA, A. A.; BOGACHEVA, N. V.; SHLYAKHTUN, V. N.; KORZHUK, A. V.; BUKATICH, E. Y.; PELTEK, S. E. Review of xylanases: sources, engineering and biotechnological use. **Microorganisms**, Basel, v. 14, n. 1, p. 127, 2026. DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms14010127>.

POLIZELI, M. L. T. M.; RIZZATTI, A. C. S.; MONTI, R.; TERENCE, H. F.; JORGE, J. A.; AMORIM, D. S. Xylanases from fungi: properties and industrial applications. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 67, n. 5, p. 577–591, 2005.

PRADE, R. A. Xylanases: from biology to biotechnology. **Biotechnology and Genetic Engineering Reviews**, v. 13, p. 101–131, 1996.

SANTOS, L. A.; SILVA, L. C.; SOUSA MAGALHÃES, G. G.; CARVALHO-SILVA, J.; CAVALCANTI, J. V. F. L.; SALES SANTOS, A. F. M.; PORTO, T. S. Enhanced methane production from sugarcane bagasse via enzymatic hydrolysis pretreatment: a comparative study of fermentation techniques. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 14, n. 3, p. 122224, 2026. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jece.2026.122224>.

SINGH, H.; KAUR, G.; SHARMA, P.; BHATIA, S. K.; KUMAR, A. Engineering Cellulolytic Fungi for Efficient Lignocellulosic Biomass Hydrolysis: Advances in Mutagenesis, Gene Editing, and Nanotechnology with CRISPR-Cas Innovations. **Discover Applied Sciences**, v. 6, p. 665, 2024.

SINGHANIA, R. R.; PATEL, A. K.; SUKUMARAN, R. K.; LARROCHE, C.; PANDEY, A. Advancement and comparative profiles in the production technologies using solid-state and submerged fermentation for microbial xylanases. **Bioresource Technology**, v. 314, p. 123719, 2020.

SOSA-MARTÍNEZ, J. D.; MONTAÑEZ, J.; CONTRERAS-ESQUIVEL, J. C.; BALAGURUSAMY, N.; GADI, S. K.; MORALES-OYERVIDES, L. Agroindustrial and food processing residues valorization for solid-state fermentation processes: A case for optimizing the co-production of hydrolytic enzymes. **Journal of Environmental Management**, v. 347, p. 119067, 2023. DOI: [10.1016/j.jenvman.2023.119067](https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2023.119067).

VAN CRAEYVELD, V.; DORNEZ, E.; HOLOPAINEN, U.; SELINHEIMO, E.; POUTANEN, K.; DELCOUR, J. A.; COURTIN, C. M. Wheat bran AX properties and choice of xylanase affect enzymic production of wheat bran-derived arabinoxylan-oligosaccharides. **Cereal Chemistry**, v. 87, n. 4, p. 283–291, 2010. DOI: [10.1094/CCHEM-87-4-0283](https://doi.org/10.1094/CCHEM-87-4-0283).

VERMA, M. L.; KUMAR, A.; CHINTAGUNTA, A. D.; SAMUDRALA, P. J. K.; BARDIN, M.; LICHTFOUSE, E. Microbial production of biopesticides for sustainable agriculture. **Sustainability**, v. 16, n. 17, p. 7496, 2024.

VINUTHANA, V. H.; SUBRAMANIAM, S.; ASM, R. et al. Optimization and characterization of

high-level thermostable xylanase produced from *Aspergillus fumigatus* PSF1 cultivated on wheat bran using response surface methodology. **Discover Applied Sciences**, v. 8, n. 502, 2026. DOI: 10.1007/s42452-026-08534-z.

WAHAB, W. A. A. Review of research progress in immobilization and chemical modification of microbial enzymes and their application. **Microbial Cell Factories**, v. 24, p. 167, 2025.

WANG, F.; XU, H.; WANG, M.; YU, X.; CUI, Y.; XU, L.; MA, A.; DING, Z.; HUO, S.; ZOU, B.; QIAN, J. Application of immobilized enzymes in juice clarification. *Foods*, Basel, v. 12, n. 23, p. 4258, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods12234258>.

WANG, T.; MA, J.; ZHONG, Y.; LIU, S.; CUI, W.; LIU, X.; FAN, G. Study of fermentation conditions optimization for xylanase production by *Aspergillus tubingensis* FS7Y52 and application in agricultural wastes degradation. **Foods**, v. 15, n. 2, p. 399, 2026. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods15020399>

YADAV, P.; ANU; TIWARI, S. K.; KUMAR, V.; SINGH, D.; KUMAR, S.; MANISHA; MALIK, V.; SINGH, B. Sugarcane bagasse: an important lignocellulosic substrate for production of enzymes and biofuels. **Biomass Conversion and Biorefinery**, v. 14, p. 6111-6142, 2024. DOI: 10.1007/s13399-022-02791-9.

YU, H.; ZHAO, S.; FAN, Y.; HU, C.; LU, W.; GUO, L. Cloning and heterologous expression of a novel halo/alkali-stable multi-domain xylanase (XylM18) from a marine bacterium *Marinimicrobium* sp. strain LS-A18. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Heidelberg, v. 103, n. 21, p. 8899-8909, 2019. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-10140-6>