

## Degradação de escamas de peixe por fungos do gênero *Paecilomyces*

Aura Lacerda Crepaldi, Norma Suely Evangelista-Barreto, Carina Sousa Guedes, Samantha Costa Boaventura, Jackeline Pereira Andrade, Phellippe Arthur Santos Marbach

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Rua Rui Barbosa, 710, Centro. CEP 44380-000. Cruz das Almas, BA, Brasil. E-mails: a\_crepaldi@hotmail.com, nsevangelista@ufrb.edu.br, cari.guedes@hotmail.com, samanthaboaventura.bio@gmail.com, jakelinepandrade@gmail.com, phmarbach@ufrb.edu.br

**Resumo:** O objetivo deste estudo foi avaliar o potencial de degradação de escamas de peixe por isolados fúngicos do gênero *Paecilomyces*. Para isso, 37 isolados foram reativados em meio ágar pena triturada (pH 6,5) e incubados a 30 °C. Os ensaios de degradação das escamas foram realizados por fermentação submersa em meio mínimo mineral (MMM) suplementado com 1,0 g da escama a 30 °C por 7 dias. Dois isolados foram selecionados como promissores na degradação das escamas, a taxa de degradação diária foi quantificada durante cinco dias e o experimento foi realizado de acordo com o Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC). Também foi verificado o efeito da submersão das escamas autoclavadas junto com o MMM ou separadas do meio sob a degradação e o perfil das proteases secretadas pela técnica do zimograma foi analisado por eletroforese em gel de poliacrilamida 12%. A taxa de degradação das escamas variou de 8,98 a 46,33%. Os isolados *Paecilomyces* sp. 13 (45,30%) e *Paecilomyces* sp. SD.23 (46,33%) apresentaram melhor eficiência de degradação. A análise de zimograma mostrou que *Paecilomyces* sp. SD.23 secreta pelo menos quatro proteases diferentes para a degradação das escamas. Os fungos do gênero *Paecilomyces* apresentam potencial de degradação usando escamas de peixe como substrato.

**Palavras chave:** Pescado, Resíduos industriais, Biodegradação, Proteases.

## Degradation of fish scales by fungi of the genus *Paecilomyces*

**Abstract:** The aim of this study was to evaluate the potential of degradation of fish scales by fungal isolates of the genus *Paecilomyces*. To this purpose, 37 fungal isolates were reactivated in crushed feather agar medium (pH 6,5) at 30 °C. The scale degradation assays were performed by submerged fermentation in Minimal Mineral Medium (MMM) supplemented with 1.0 g of the scale at 30° C for 7 days. Two isolates was classified as promising in fish scale degradation, a daily rate of degradation was quantified over five days and the experiment was performed according to the Completely Randomized Design (CRD). The experiment also checked the effect over degradation of the submersion of the autoclaved scales together with the MMM or the degradation medium and also the profile of the proteases secreted by zymography analysed by electrophoresis in 12% polyacrylamide gel. The rate of scale degradation ranged from 8.98 to 46.33%. *Paecilomyces* sp. 13 (45.30%) and *Paecilomyces* sp. SD.23 (46.33%) presented better degradation efficiency. Zymogram analysis showed that the *Paecilomyces* sp. SD.23 isolate secretes at least four different proteases for scale degradation. The fungi of the genus *Paecilomyces* present degradation potential when the fish scales are used as substrate.

**Key words:** Fish, Industrial waste, Biodegradation, Proteases.

## Introdução

A produção mundial de pescado, proveniente da pesca extrativa e aquicultura foi de 167,2 milhões de toneladas em 2014, sendo a maior contribuição dada pela China, Indonésia, Índia e Japão. O Brasil encontra-se em 14º lugar no *ranking* para aquicultura com 561,8 mil toneladas segundo a Food and Agriculture Organization [FAO] (2016).

No Brasil, a produção nacional de pescado é uma atividade que vem crescendo de forma acelerada devido ao aumento populacional e pela busca por uma alimentação mais saudável (Sidonio et al., 2012) apresentando um aumento de aproximadamente 13,2% de 2010 para 2011 segundo o Ministério da Pesca e Aquicultura (Brasil, 2011). A industrialização do pescado produz grandes quantidades de resíduos (cabeça, pele, vísceras, carcaça e escamas) que, a depender da espécie e do tipo de processamento, pode representar até 70% da produção total (Aguiar, Limberger & Silveira, 2014). Na cadeia produtiva da tilápia, espécie hoje mais representativa na aquicultura brasileira com 47,1% segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística [IBGE] (2016), o filé é o principal produto comercializado, apresentando rendimento de 30 a 33%, enquanto de resíduos pode atingir cerca de 67% da matéria prima (Martins et al., 2015). A utilização adequada desses resíduos é necessária tanto para a conservação ambiental como para o desenvolvimento de novas indústrias (El-Rashidy et al., 2015).

Em todos os ramos da agroindústria, o maior desafio tem sido o destino final dos resíduos gerados devido ao impacto ambiental quando descartado de forma indevida no meio ambiente, como a hipernutrição e eutrofização (Ostrensky et al., 2007). Buscando estratégias de minimizar esta situação, uma das alternativas encontradas tem sido o aproveitamento dos resíduos, como silagem, carne mecanicamente processada, concentrados protéicos e artesanato (Paiva et al., 2015). Além de diminuir os impactos ambientais ainda gera lucro a partir da agregação de valor aos subprodutos (Aguiar et al., 2014).

Na indústria pesqueira o aproveitamento da escama de peixe ainda é pouco explorado, sendo basicamente utilizada na confecção de artesanatos (Santos et al. 2009). No processo de produção de farinha de peixe e silagem, as escamas apresentam baixa degradação, sendo dispostas quase sempre em aterros sanitários

(Feldes, et al., 2010). A elevada resistência das escamas a degradação se deve a sua constituição, pois é formada por uma camada superficial óssea calcificada (principalmente fosfato ( $\text{Ca}(\text{PO}_4)_2$ ) e carbonato de cálcio ( $\text{CaCO}_3$ ) e uma camada profunda fibrosa composta basicamente por colágeno (Bemvenuti & Fisher, 2010).

Os fungos filamentosos tem sido utilizados em processos de bioconversão visando o uso de biomassa como fonte de carbono e nitrogênio para a produção de enzimas extracelulares de interesse industrial via processos fermentativos (Orlandelli et al., 2012 & Wanderley et al., 2017). As proteases, amilases, celulases, pectinases e enzimas fibrinolíticas tem sido as principais enzimas produzidas industrialmente (Kim et al., 2011, Griebeler et al., 2015 & Paiva et al., 2015).

O gênero *Paecilomyces* sp., é um fungo filamentoso comumente encontrado no solo, e está relacionado à decomposição de plantas e produtos alimentícios (Samson, et al., 2009), tem sido estudado para fins biotecnológicos, como produção de enzimas queratinolíticas para biodegradação de resíduos sólidos da indústria de couro, proteases e enzimas fibrinolíticas (Cavello et al., 2013, Soares et al., 2010 & Kim et al., 2011). As espécies *P. variotii* e *P. fumosoroseus* representam grande importância biotecnológica por serem produtoras de enzimas termotolerantes (Michelin et al., 2010).

Baseado nisso, o presente trabalho teve como objetivo investigar o potencial biotecnológico de fungos filamentosos do gênero *Paecilomyces*, na degradação de escamas de peixes como alternativa para aproveitamento desse resíduo.

## Material e métodos

Escamas de diferentes espécies de peixes marinhos não identificados foram coletadas no mercado de peixe em Cruz das Almas, Bahia e encaminhadas ao Laboratório de Biologia Evolutiva [LABEV] da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia [UFRB]. As escamas foram lavadas em água corrente e submetidas à secagem em estufa de circulação forçada a 70 °C por 24 horas, com armazenamento a temperatura ambiente.

Inicialmente foram utilizados 37 fungos filamentosos pertencentes ao gênero *Paecilomyces*, isolados da serrapilheira da

restinga de Guaibim-BA e provenientes do acervo de fungos do LABEV. Os isolados fúngicos se encontravam conservados pelo método de Castellani (Castellani, 1939). Os isolados foram reativados em meio sólido contendo pena de frango triturada (Agar 15 g,  $K_2HPO_4$  0,3 g,  $KH_2PO_4$  0,4 g, pena triturada 10 g, NaCl 0,5 g, clorafenicol 0,075 g e água destilada 1000 mL) e incubados a 30 °C por sete dias. Após esse período, um disco com 1,0 cm de diâmetro de cada isolado foi transferido para frascos *Erlenmeyer* de 250 mL contendo 60 mL de Meio Mínimo Mineral – MMM ( $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0,05 g,  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$  0,005 g,  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$  0,015 g,  $CaCl_2$  0,025 g,  $K_2HPO_4$  0,3 g,  $KH_2PO_4$  0,4 g) suplementado com 1,0 g de escama inteira e incubados a 30° C com agitação de 150 rpm por sete dias. Decorrido o período, o caldo MMM foi autoclavado, filtrado em papel de filtro e seco em estufa a 65 °C, por 24 horas para determinação da quantificação de degradação das escamas por diferença de peso. Como controle negativo foi utilizado o meio MMM com escamas e sem inoculo.

Para verificar se houve contaminação do meio ao final da fermentação, uma alçada do meio de cultura foi inoculada em ágar malte 20% e incubadas a 30 °C por sete dias.

A porcentagem de degradação das escamas foi calculada por meio da seguinte fórmula:

$$\text{Fórmula 1: } \% \text{degradação} = 100 - \left[ \left( \frac{P1}{Pc} \right) \times 100 \right]$$

Onde:

P1 = peso seco das escamas degradadas;

Pc = peso seco das escamas do controle negativo.

As médias da porcentagem de degradação foram transformadas pela função arco cosseno:

$$\text{Fórmula 2: } y = \cos^{-1} x$$

Onde:

y = média transformada;

x = média de degradação das escamas.

A análise dos resultados foi realizada por meio da análise de variância (ANOVA) e as médias de degradação transformadas foram comparadas pelo Teste Scott-Knott, utilizando o software R Core Team da The European Environment Agency (EEA, 2016).

Para verificar a influência da imersão das escamas durante a autoclavagem na degradação das escamas de peixe foi realizado um novo ensaio em duas condições: escamas autoclavadas imersas no MMM (EIM) e escamas

autoclavadas separadas do MMM (ESM). No tratamento EIM, 60 mL do meio MMM contendo 1 g de escama foi autoclavado a 121 °C por 15 minutos enquanto que no tratamento ESM, o meio MMM e as escamas foram autoclavados separadamente e homogeneizados posteriormente. O mesmo processo foi realizado com o controle negativo. A porcentagem de degradação foi calculada por meio da diferença do peso das escamas do controle negativo e o peso das escamas degradadas pelos fungos. Este experimento foi realizado com seis isolados de *Paecilomyces*, selecionados previamente e os que apresentaram melhor eficiência de degradação foram submetidos aos ensaios subsequentes.

Para se obter a taxa de degradação diária das escamas de peixe foi realizado mais um ensaio utilizando os dois isolados que melhor degradaram as escamas de acordo com os resultados obtidos nos experimentos anteriores. O percentual de degradação diária foi calculado a cada 24 horas, durante cinco dias. O experimento foi realizado em Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC), utilizando dois isolados e três repetições. A análise dos resultados foi realizada por meio de análise de regressão e ANOVA com comparação de médias pelo Teste de Scott-Knott, utilizando o software R Core Team (EEA, 2016).

O perfil de proteases secretadas pelo isolado fúngico foi obtido pela técnica de zimograma com modificações (Peyronel & Cantera, 1995). Inicialmente, alíquotas de 8 µL do tampão de carregamento foram adicionados à 6 µL dos sobrenadantes obtidos após fermentação dos isolados de *Paecilomyces*. Posteriormente, as amostras foram submetidas à eletroforese em gel de poliacrilamida a 12% copolimerizada com 0,1% de gelatina, como substrato para proteases e 20% de dodecil sulfato de sódio (SDS). Os sobrenadantes foram preparados sem aquecimento e adição de agentes redutores, ou seja, em condições não-desnaturantes. A migração eletroforética foi realizada em tampão Tris-Glicina (1 M, pH 8,5) por 180 minutos à 150 V, 500 mA e 4 °C. Após a eletroforese, o SDS foi removido do gel usando Triton X-100 e o gel foi incubado no tampão de digestão (Tris HCl 50 mM, pH 8,0) a 37 °C, por 9 horas. Em seguida, o gel foi corado com solução de azul Coomassie Blue R-250 para leitura das áreas de digestão enzimática que apareceram como áreas não-coradas.

## Resultados e discussão

O percentual de degradação das escamas pelos isolados fúngicos de *Paecilomyces* variou de 8,99 a 46,33%. Apenas os isolados 13, 36 e SD.23 apresentaram degradação na faixa de 40 a 50% (Figura 1 e Tabela 1).

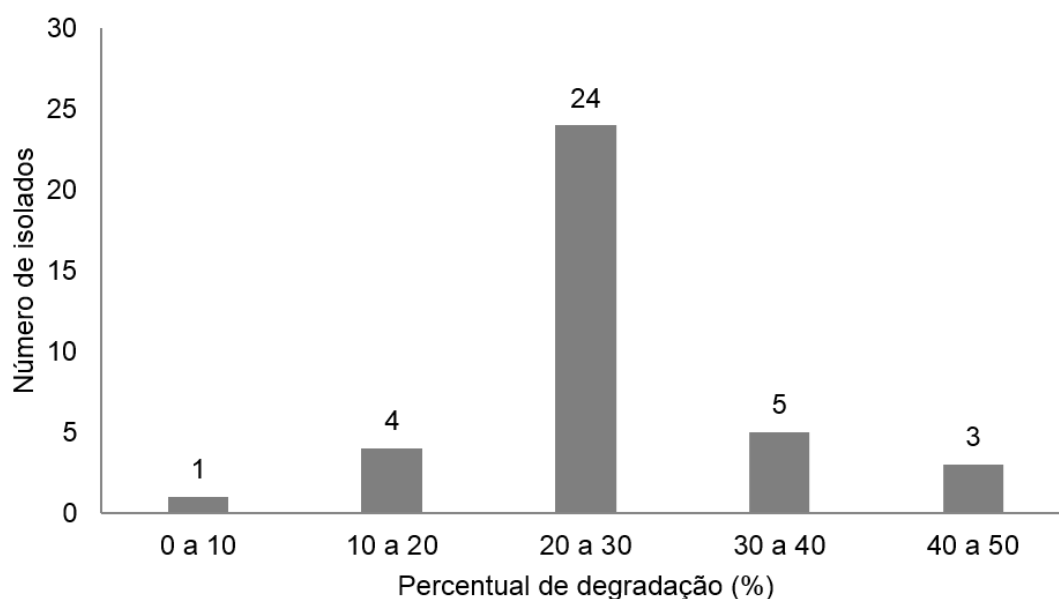
Os dados experimentais foram ajustados ( $\cos x^{-1}$ ) pelo teste de Scott-Knott e demonstraram que a taxa de degradação de oito isolados diferiram estatisticamente dos demais ( $p < 0,05$ ) (Tabela 1). Destaca-se que a taxa de degradação encontrada se refere apenas a capacidade de degradação dos isolados testados, descartando a ação da agitação e submissão das escamas a altas temperaturas durante o processo de autoclavagem. Logo, se comparada ao peso inicial da escama (1 g), a taxa de degradação contabilizada teria valores maiores, visto que, os controles apresentaram, em média, diminuição de 32% do peso inicial, provavelmente devido à ação mecânica da agitação durante o período de fermentação submersa.

Guedes (2016) analisando os mesmos isolados fúngicos na degradação de penas de frangos nas mesmas condições de fermentação relatou valores de degradação bem superiores

aos encontrados para as escamas de peixe, alcançando taxas de até 75%, diferente dos resultados obtidos nesse trabalho. Por exemplo, a taxa de degradação das penas pelo isolado *Paecilomyces* sp. 35 foi de 75,19%, contudo, apenas 26,61% para escamas. Essa contestação pode ser devido à diferença na composição dos substratos. As escamas de peixes apresentam em sua composição uma matriz extracelular inorgânica composta por cristais de hidroxiapatita e uma porção orgânica composta por fibras de colágeno, em sua maioria do tipo I (Mori et al., 2013 & El-Rashidy et al., 2015), que juntos formam uma estrutura tridimensional altamente ordenada (Pati et al., 2010), enquanto as penas de frango apresentam como estrutura principal queratina (Belarmino et al., 2012).

Outro fator que contribuiu na obtenção de diferentes percentuais de degradação se deve a utilização de diferentes escamas utilizadas. Apesar da estrutura básica das escamas ser relativamente semelhante entre peixes do mar ou de água doce, podem ocorrer diferenças na quantidade e nos tipos de minerais diferentes da apatita, devido às diferenças dos ambientes aquáticos (Santos et al., 2009).

**Figura 1** - Número de isolados fúngicos do gênero *Paecilomyces* agrupados de acordo com o percentual de degradação.



**Tabela 1** - Taxa de degradação de escamas de peixes por isolados fúngicos do gênero *Paecilomyces*.

Isolados	Degradação (%) <sup>*</sup>	Isolados	Degradação (%) <sup>*</sup>
<i>Paecilomyces</i> sp. 6	35,35 <sup>a</sup>	<i>Paecilomyces</i> sp. 39	27,76 <sup>b</sup>
<i>Paecilomyces</i> sp. 7	23,46 <sup>b</sup>	<i>Paecilomyces</i> sp. 41	26,64 <sup>b</sup>
<i>Paecilomyces</i> sp. 8	24,48 <sup>b</sup>	<i>Paecilomyces</i> sp. 42	26,19 <sup>b</sup>
<i>Paecilomyces</i> sp. 9	25,76 <sup>b</sup>	<i>Paecilomyces</i> sp. 44	8,99 <sup>b</sup>
<i>Paecilomyces</i> sp. 13	45,30 <sup>a</sup>	<i>Paecilomyces</i> sp. 46	22,57 <sup>b</sup>
<i>Paecilomyces</i> sp. 14	25,98 <sup>b</sup>	<i>Paecilomyces</i> sp. 73	32,35 <sup>a</sup>
<i>Paecilomyces</i> sp. 17	21,38 <sup>b</sup>	<i>Paecilomyces</i> sp. 74	24,61 <sup>b</sup>
<i>Paecilomyces</i> sp. 18	29,15 <sup>b</sup>	<i>Paecilomyces</i> sp. 75	22,32 <sup>b</sup>
<i>Paecilomyces</i> sp. 20	24,06 <sup>b</sup>	<i>Paecilomyces</i> sp. 85	10,63 <sup>b</sup>
<i>Paecilomyces</i> sp. 24	26,03 <sup>b</sup>	<i>Paecilomyces</i> sp. 93	34,99 <sup>a</sup>
<i>Paecilomyces</i> sp. 26	24,38 <sup>b</sup>	<i>Paecilomyces</i> sp. 110	17,30 <sup>b</sup>
<i>Paecilomyces</i> sp. 27	24,51 <sup>b</sup>	<i>Paecilomyces</i> sp. 79.2	38,32 <sup>a</sup>
<i>Paecilomyces</i> sp. 28	26,68 <sup>b</sup>	<i>Paecilomyces</i> sp. SD.11	24,11 <sup>b</sup>
<i>Paecilomyces</i> sp. 29	21,20 <sup>b</sup>	<i>Paecilomyces</i> sp. SD.13	26,39 <sup>b</sup>
<i>Paecilomyces</i> sp. 30	33,61 <sup>a</sup>	<i>Paecilomyces</i> sp. SD.22	19,62 <sup>b</sup>
<i>Paecilomyces</i> sp. 34	11,56 <sup>b</sup>	<i>Paecilomyces</i> sp. SD.23	46,33 <sup>a</sup>
<i>Paecilomyces</i> sp. 35	26,61 <sup>b</sup>	<i>Paecilomyces</i> sp. SD.26	27,31 <sup>b</sup>
<i>Paecilomyces</i> sp. 36	42,48 <sup>a</sup>	<i>Paecilomyces</i> sp. SD.29	22,01 <sup>b</sup>
<i>Paecilomyces</i> sp. 38	20,65 <sup>b</sup>		

Médias transformadas ( $\cos x^{-1}$ ) seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, considerando valor nominal de 5% de significância.

Com relação a ação do calor úmido na esterilização das escamas verificou-se que houve grande diferença no percentual de degradação no tratamento EIM, variando de 22,57% (*Paecilomyces* sp. 46) a 45,3% (*Paecilomyces* sp.

13) e quando usado as escamas no tratamento ESM, a variação foi de 0,00 (*Paecilomyces* sp. 13) a 10,62% (*Paecilomyces* sp. 74), como mostra a Tabela 2.

**Tabela 2** - Percentual de degradação de escamas de peixes por isolados fúngicos de *Paecilomyces* sp. sob diferentes formas de esterilização

Isolados	Degradação (%)	
	EIM <sup>1</sup>	ESM <sup>2</sup>
<i>Paecilomyces</i> sp.SD.26	27,31	08,18
<i>Paecilomyces</i> sp.13	45,30	00,00
<i>Paecilomyces</i> sp.27	24,51	02,54
<i>Paecilomyces</i> sp.28	26,68	07,19
<i>Paecilomyces</i> sp.46	22,57	09,46
<i>Paecilomyces</i> sp.74	24,61	10,62

<sup>1</sup> Escamas Imersas no MMM, <sup>2</sup> Escamas Separadas do MMM.

O isolado *Paecilomyces* sp.13 foi o que apresentou maior diferença no percentual de degradação entre os tratamentos, obtendo 45,30% de degradação no tratamento EIM e 0,00% no tratamento ESM (Tabela 2). Neste ensaio foi possível verificar que a exposição das escamas ao calor úmido melhora a eficiência de degradação por fungos, visto que a água facilita a desnaturação térmica das proteínas resultando em maior exposição das fibras de colágeno (Pal et al., 2016) e conseqüentemente maior ação das proteases. Para Basu e Banik (2005) o aquecimento da escama em água ao promover a desnaturação da estrutura do colágeno favorece a difusão de enzimas no substrato, aumentando o grau de hidrólise.

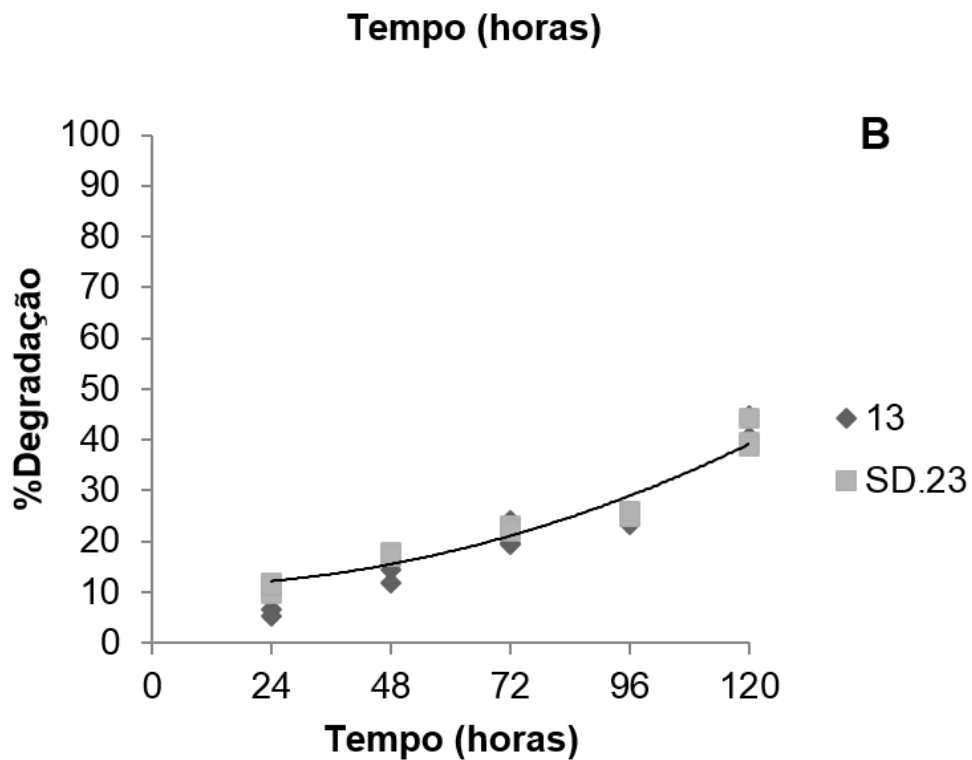
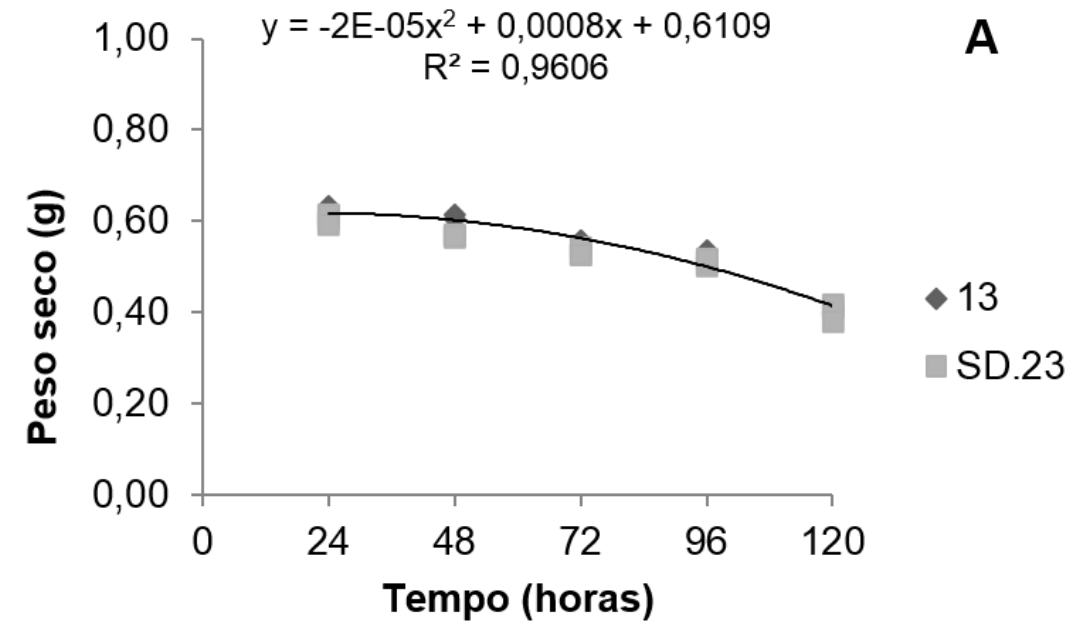
Com relação a taxa de degradação diária, foi possível observar um aumento gradativo no perfil de degradação para os isolados *Paecilomyces* sp.SD.23 e *Paecilomyces* sp. 13, com 41,15 e 38,77%, respectivamente, os quais não diferiram estatisticamente ( $p>0,05$ ) entre si até o quinto dia de avaliação (Figura 2 e Tabela 3). A análise de zimograma mostrou que a degradação das escamas pelo isolado

*Paecilomyces* SD.23 é resultante da ação de pelo menos quatro proteases secretadas pelo fungo durante a fermentação submersa.

Considerando que a degradação de substratos orgânicos por fungos filamentosos é realizada pela secreção de enzimas extracelulares (Orlandelli et al., 2012), novos ensaios devem ser realizados a fim de verificar parâmetros como pH e temperatura, importantes na produção e ação das enzimas (Griebeler et al., 2015). Outras variáveis como concentração de sais no meio de cultura e adição de açúcares como fonte simples de carboidratos também devem ser investigadas. Cavello et al. (2012) analisando a produção de queratinase em cabelo por *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson relataram maior produção da enzima ao adicionarem glicose e extrato de levedura ao meio de fermentação.

Nandy et al. (2014) afirmaram que o potencial biotecnológico de fungos filamentosos é promissor, principalmente na degradação de escamas de peixe e sua utilização como suplemento nutricional.

**Figura 2** - Linearização por transformação polinomial do peso seco das escamas degradadas **(A)**, e do percentual médio de degradação diária **(B)** das escamas de peixe pelos isolados fúngicos *Paecilomyces* sp.SD. 23 e *Paecilomyces* sp.13 durante cinco dias de degradação.



**Tabela 3** - Degradação das escamas de peixe pelos isolados *Paecilomyces* sp.13 e *Paecilomyces* sp.SD.23 durante cinco dias de fermentação.

Dias	Degradação (%)	
	<i>Paecilomyces</i> sp. 13	<i>Paecilomyces</i> sp. SD.23
1	8,07 <sup>a</sup>	10,24 <sup>a</sup>
2	13,05 <sup>a</sup>	18,78 <sup>b</sup>
3	20,27 <sup>b</sup>	21,74 <sup>b</sup>
4	23,84 <sup>c</sup>	24,96 <sup>b</sup>
5	41,15 <sup>d</sup>	38,76 <sup>c</sup>
6	32,62 <sup>d</sup>	32,83 <sup>c</sup>
7	34,78 <sup>d</sup>	35,48 <sup>c</sup>

\*Médias transformadas ( $\cos x^{-1}$ ) seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, considerando valor nominal de 5% de significância

## Conclusão

Os isolados fúngicos do gênero *Paecilomyces* apresentam potencial biotecnológico na degradação de escamas de peixes, e este substrato pode ser utilizado para o isolamento das enzimas secretadas.

## Referências

- Aguiar, G. P. S., Limberger, G. M., & Silveira, E. L. (2014). Alternativas tecnológicas para o aproveitamento de resíduos provenientes da industrialização de pescados. *Interdisciplinar: Revista Eletrônica da UNIVAR*, 1 (11), 225-229.
- Basu, B., & Banik, A. K. (2005). Production of protein rich organic fertilizer from fish scale by a mutant *Aspergillus niger* AB100 – a media optimization study. *Journal of Scientific & Industrial Research*, 64 (1), 293-298.
- Bemvenuti, A. M., & Fischer, L. G. (2010). Peixes: Morfologia e adaptações. *Cadernos de Ecologia Aquática*, 5 (2), 31-54.
- Belarmino, D. D., Ladchumananandasivam, R., Belarmino, L. D., Andrade, S. M. B., Galvão, A. O., & Ribeiro, L. M. (2012). Estudo da estabilidade térmica de fibra queratina (KF) de penas de frango para obtenção de carbono (CF). *Holos*, 3 (1), 30- 40.
- Brasil. Ministério da Pesca e Aquicultura. (2011). *Boletim estatístico da pesca e aquicultura*. Brasília: MPA.
- Castellani, A. (1939). Viability of mold culture of fungi in destied water. *Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 42, 225.
- Cavello, I. A., Cavalitto, S. F., & Hours, R. A. (2012). Biodegradation of a keratin waste and the concomitant production of detergent stable serine proteases from *Paecilomyces lilacinus*. *Applied*



- Biochemistry and Biotechnology*, 167 (5), 945-958.
- Cavello, I. A., Chesini, M., Hours, R. A., & Cavalitto, S. F. (2013). Study of the production of alkaline keratinases in submerged cultures as an alternative for solid waste treatment generated in leather technology. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 23 (7), 1004-1014.
- El-Rashidy, A. A., Gad, A., Abu-Hussein, A. E-H. G., Habib, S. I., Badr, N. A., & Hashem, A. A. (2015). Chemical and biological evaluation of Egyptian Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) fish scale collagen. *International Journal of Biological Macromoleculares*, 79 (1), 618-626.
- Food and Agriculture Organization. (2016). *El estado mundial de la pesca y la acuicultura: Contribución a la seguridad alimentaria y la nutrición para todos* (226p). Roma: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.
- Feltes, M. M. C., Correia, J. F.G., Beirão, L. H., Block, J. M., Ninow, J. L., & Spiller, V.R.(2010). Alternativas para a agregação de valor aos resíduos da industrialização de peixe. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 14 (6), 669-677.
- Griebeler, N. E., Bortoli, V., Astolfi, A. L., Daronch, N. A., & Cristina, A. (2015). Seleção de fungos filamentosos produtores de amilases, proteases, celulasas e pectinases. *Revista Acadêmica: Ciência Animal*, 13 (1), 13-22.
- Guedes, C. S. (2016). *Diversidade e potencial biotecnológico de fungos degradadores de penas da restinga de Guaibim, BA*. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. Cruz das Almas, Bahia, Brasil.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. (2016). *Pesquisa pecuária municipal*. Rio de Janeiro. Recuperado em 28 junho, 2017, de <https://ww2.ibge.gov.br/home/>
- Kim, H. C., Choi, B. S., Sapkota, K., Kim, S., Lee, H. J., Yoo, J. C., & Kim, S. J. (2011). Purification and characterization of a novel, highly potent fibrinolytic enzyme from *Paecilomyces tenuipes*. *Process Biochemistry*, 46 (8), 1545-1553.
- Martins, M. E. O., Claudino, R. L., Morais, J. P. S., Cassales, A. R., Alexandre, L. C., Souza, B. W. S., Alcântara, L. O., Sousa, J. R., & Souza Filho, M. S. M. (2015). *Obtenção de gelatina a partir de escama de tilápia (Oreochromis niloticus): características químicas e físico-químicas* (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, n.108, pp.1-23). Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical.
- Michelin, M., Silva, T. M., Benassi, V. M., Peixoto-Nogueira, S. C., Moraes, L. A. B., Leão, J. M., & Maria de Lourdes, T. M. (2010). Purification and characterization of a thermostable  $\alpha$ -amylase produced by the fungus *Paecilomyces variotii*. *Carbohydrate Research*, 345 (16), 2348-2353.
- Mori, H., Tone, Y., Shimizu, K., Zikihara, K., Tokutomi, S., Ida, T., Ihara, H., & Hara, M. (2013). Studies on fish scale collagen of Pacific saury (*Cololabis saira*). *Materials Science and Engineering: C-journal*, 33 (1), 174-181.
- Nandy, V., Bakshi, M., Ghosh, S., Sharma, H., Basu, B. R., & Chaudhuri, P. (2014). Potentiality assessment of fish scale biodegradation using mangrove fungi isolated from Indian Sundarban. *International Letters of Natural Sciences*, 14 (1), 68-76.
- Orlandelli, R. C., Specian, V., Felber, A. C., & Pamphile, J. A. (2012). Enzimas de interesse industrial: produção por fungos e aplicações. *SaBios-Revista de Saúde e Biologia*, 7 (3), 97-109.
- Ostrensky, A., Borghetti, J. R., & Soto, D. (2007). *Estudo setorial para consolidação de uma aquicultura sustentável no Brasil* (279p). Curitiba: Grupo Integrado de Aquicultura e Estudos Ambientais.
- Pal, P., Srivas, P. K., Dadhich, P., Das, B., Maity, P. P., Moulik, D., & Dhara, S. (2016). Accelerating full thickness wound healing using collagen sponge of mrigal fish (*Cirrhinus cirrhosus*) scale origin. *International Journal of Biological Macromolecules*, 93 (Part B), 1507-1518.
- Paiva F. C., F., Alecrim, M. M., Teixeira, M. F. S., Souza Kirsch, L., & Jesus, R. S. (2015). Produção de hidrolisado proteico de pirarucu utilizando-se protease de *Aspergillus flavo-furcatis* e

pancreatina. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 45 (1), 89-96.

Pati, F., Adhikari, B., & Dhara, S. (2010). Isolation and characterization of fish scale collagen of higher thermal stability. *Bioresource Technology* 101 (10), 3737-3742.

Peyronel, D. V., & Cantera, A. M. B. (1995). A simple and rapid technique for postelectrophoretic detection of proteases using azocasein. *Electrophoresis*, 16 (1), 1894-1897.

Samson, R. A., Houbraken, J., Varga, J., & Frisvad, J. C. (2009). Polyphasic taxonomy of the heat resistant ascomycete genus *Byssochlamys* and its *Paecilomyces anamorphs*. *Persoonia*, 22, 14-27.

Santos, E. B., Vieira, E. F. S., Cestari, A. R., & Barreto, L. S. (2009). Caracterização de escamas do peixe piau (*Leporinus elongatus*) e sua aplicação na remoção de Cu(II) de meio aquoso. *Química Nova*, 32 (1), 134-138.

Sidonio, L., Cavalcanti, I., Capanema, L., Morch, R., Magalhaes, G., Lima, J., Burns, V., Alves, Junior, A. J., & Mungiolli, R. (2012). Panorama da aquicultura no Brasil: desafios e oportunidades. *BNDES setorial*, 35, 421-463.

Soares, F. E. F., Braga, F. R., Leonardo, H., de Araújo, J. V., Araujo, J. M., Vilela, V. L. R., & de Queiroz, J. H. (2010). Optimization of medium composition for protease production by *Paecilomyces marquandii* in solid-state-fermentation using response surface methodology. *African Journal of Microbiology Research*, 4 (24), 2699-2703.

The European Environment Agency. (2016). R Core Team. R: A language and environment for statistical computing [Programa de computador]. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing.

Wanderley, M. C. A., Duarte Neto, J. M. W., Lima Filho, J. L., Lima, C. A., Teixeira, J. A. C., & Porto, A. L. F. (2017). Collagenolytic enzymes produced by fungi: a systematic review. *Brazilian Journal of Microbiology*, 48 (1), 13-24.

Recebido em: 30/06/2017

Aceito em: 09/11/2018