



Uso de modelos animais com alto potencial de degradação de biomassa lignocelulósica para produção de etanol de segunda geração: uma análise cientométrica

The use of animal models with high potential of lignocellulosic biomass degradation for 2nd generation ethanol production: a scientometric analysis

Irapoan Bertholdo¹, Albert Luiz Suhett^{1,2}

AUTHOR AFILIATIONS

1 – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Campus Zona Oeste
2 – Departamento de Ciências Ambientais, Instituto de Florestas, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

ORCIDS AND CONTACT

Irapoan Bertholdo
Orcid: 0000-0002-6472-7802
suhett@urfrj.br

Albert Luiz Suhett
Orcid: 0000-0001-8810-6333
suhett@urfrj.br

ABSTRACT

The use of lignocellulosic biomass for the production of second-generation ethanol has been widely studied due to the need to develop fuels from renewable sources. One of the barriers encountered is the high cost of enzymes that hydrolyze this biomass. A way to reduce this cost is to seek enzymes with high potential for degrading lignocellulosic residues in animal models. In this work, the use of animal models (termite, snail, and cockroach) with potential for degrading lignocellulosic biomass for ethanol production was surveyed. For this study, a bibliographic research was conducted using the digital bibliographic database Web of Science. Of the 89 articles analyzed, twenty-eight studied the activity of cellulases, forty-four the processes of cellulose digestion/degradation, thirteen the expression of genes encoding cellulases, and four dealt with feeding processes. The analyzed articles demonstrate that termites, snails, and cockroaches are animal models with high potential for lignocellulosic biomass degradation for second-generation ethanol production. The most studied model in the last 68 years was the termite, with studies mostly addressing the processes of cellulose degradation/digestion and cellulase activities.

Keywords: lignocellulose, biofuels, termites.

RESUMO

O uso de biomassa lignocelulósica para produção de etanol de segunda geração vem sendo amplamente estudado, visto que existe uma necessidade de se desenvolver combustíveis que usem matéria prima de fontes renováveis. Uma das barreiras encontradas é o elevado custo de enzimas que hidrolisam essa biomassa. Uma forma de baratear este custo é buscar em modelos animais enzimas com alto potencial de degradação dos resíduos lignocelulósicos. Neste trabalho foi efetuado

o levantamento do uso de modelos animais (cupim, caramujo e barata), com potencial de degradação de biomassa lignocelulósica para produção de etanol. Para realização do estudo foi feita uma pesquisa bibliográfica, recorrendo a base bibliográfica digital Web of Science. Dos 89 artigos analisados, vinte e oito estudaram a atividade das celulasas, quarenta e quatro os processos de digestão/degradação de celulose, treze a expressão de genes que codificam celulasas e quatro trataram dos processos de alimentação. Os artigos analisados demonstram que cupim, caramujo e barata são modelos animais com alto potencial de degradação de biomassa lignocelulósica para produção de etanol de segunda geração. O modelo mais estudado nos últimos 68 anos foi o cupim, com estudos abordando em sua maioria os processos de degradação/digestão da celulose e atividades das celulasas.

Palavras-chave: lignocelulose, biocombustíveis, cupins.

INTRODUÇÃO

A adoção de fontes energéticas renováveis tem sido amplamente almejada desde a década de 1970, quando as crises do petróleo levaram diversos países a buscarem a segurança no fornecimento de energia e a redução da dependência da importação de combustíveis. Recentemente, as preocupações ambientais se tornaram o maior motor para a busca de alternativas mais limpas de produção de energia. A preocupação com as mudanças climáticas e os esforços para a redução das emissões de Gases de Efeito Estufa (GEE), a partir da assinatura do Protocolo de Quioto, em 1997, levaram à busca por alternativas que pudessem suprir as

necessidades econômicas e, ao mesmo tempo, gerar menos impactos ambientais (Simas & Pacca, 2013).

Quando se trata de utilização de fontes de energias renováveis, o Brasil apresenta uma condição bastante favorável em relação ao resto do mundo. Energias renováveis representavam 43,5% do consumo total no Brasil em 2017 – em sua maioria energia de origem hidrelétrica – ao passo que no restante do mundo era de apenas 14% (EPE, 2018).

O mais abundante recurso biológico renovável da terra é a biomassa lignocelulósica. Os biocombustíveis de segunda geração são produzidos a partir desta biomassa que são os resíduos agrícolas, florestais e industriais.

Contrariamente aos combustíveis de primeira geração, nos quais são utilizadas frações das plantas, os de segunda geração empregam a planta integralmente para a produção da bioenergia (Taherzadeh, 2008). A tecnologia de conversão de biomassa lignocelulósica em açúcares fermentáveis para a produção de etanol vem sendo considerada como uma alternativa promissora para atender à demanda mundial por combustíveis. Apesar de já existirem tecnologias disponíveis para o processamento da celulose, a maioria esbarra em dificuldades técnicas ou econômicas (Zhang *et al*, 2009).

Um dos principais gargalos que envolvem a produção de etanol celulósico é “desmontar” a parede celular liberando os polissacarídeos como fonte de açúcares fermentescíveis de forma eficiente e economicamente viável. Os açúcares presentes na palha de cana-de-açúcar encontram-se na forma de polímeros (celulose e hemicelulose) e são recobertos por uma macromolécula (lignina), formando a microfibrila celulósica. Devido à sua interação intermolecular e completa ausência de água na estrutura da microfibrila, a celulose apresenta

estrutura bastante recalcitrante, difícil de ser desestruturada e convertida em monossacarídeos fermentescíveis (Fengel, 1989). Por esse motivo, o rendimento líquido da conversão da celulose em glicose livre e, a seguir, em etanol é desfavorável com as tecnologias disponíveis (Hendriks, 2009).

Diversos insetos, como cupins e baratas que se alimentam de madeira, besouros e formigas cortadeiras, entre outros, podem usar substratos lignocelulósicos, como sua principal fonte de alimentação e são altamente eficientes na degradação da celulose em glicose como fonte de energia (Sun & Zhou, 2009). Este fato elenca estes animais como interessantes modelos candidatos a estudos que busquem soluções biotecnológicas para a barreira da degradação de biomassa vegetal para produção de bioetanol.

Microrganismos associados ao trato digestivo das diversas espécies de cupins são essenciais para a sobrevivência desses insetos por serem fontes potenciais de enzimas que degradam celulose e lignina, fornecendo aos seus hospedeiros glicose e ácidos graxos que serão utilizados como fonte de energia. (Breznak, 2002).

A capacidade de degradar lignocelulose dá aos cupins um lugar importante no ciclo do carbono. Essa capacidade depende de sua parceria com uma comunidade diversificada de simbiontes intestinais bacterianos, arqueas e eucariotos, que quebram a fibra vegetal e fermentam os produtos de etilo e quantidades variáveis de metano, com hidrogênio como um intermediário central. A alta eficiência de seus biorreatores intestinais faz dos cupins promissores modelos para a conversão industrial de lignocelulose em produtos microbianos e a produção de biocombustível (Ward & Singh, 2002).

As baratas, um grupo com cerca de 4600 espécies descritas no mundo e 770 para o Brasil, são importantes participantes da decomposição de matéria orgânica, incluindo detritos vegetais (Grandcolas *et al*, 2024), e por isto apresentam também grande potencial como modelos animais para a busca de soluções biotecnológicas na degradação de resíduos ricos em lignina e celulose. Bertino-Grimnaldi *et al* (2013) evidenciam que quando alimentadas com resíduos lignocelulósicos, as baratas produzem

enzimas com capacidade de digerir estes compostos. Enzimas essas que são do próprio inseto e também produzidas pelos simbiontes que residem em seu intestino.

Outro organismo com grande potencial na degradação de biomassa lignocelulósica é o caramujo gigante africano, *Achatina fulica*, que foi considerado a espécie de caracol terrestre mais amplamente introduzida e invasiva no mundo (Raut & Barker, 2002). Um estudo feito por Cardoso *et al.* (2012) demonstrou que esta espécie possui em seu trato digestivo cepas de bactérias que produzem enzimas degradadoras de biomassa vegetal. Tal particularidade confere a este organismo uma grande eficiência em degradar compostos lignocelulósicos. Logo, tais enzimas podem ter serventia em processos biotecnológicos de produção de biocombustíveis.

No presente estudo, objetivos fazer um diagnóstico das publicações científicas que investigam o potencial dos modelos animais acima citados (cupins, baratas e o caramujo africano) na degradação de biomassa lignocelulósica para produção de biocombustível de segunda geração. A partir de uma pesquisa

bibliográfica, foi feita uma análise cientométrica da evolução do número de artigos publicados num intervalo de 7 décadas, tanto em número total de artigos como também categorizados de acordo com o modelo animal e as abordagens metodológicas utilizadas. Com este estudo, esperamos contribuir para a indicação dos principais caminhos seguidos e contribuições das publicações até o momento, bem como indicar lacunas que possam ser foco de investigações futuras nesta área.

MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização do estudo foi efetuada uma pesquisa bibliográfica recorrendo à base bibliográfica digital Web of Science. De acordo com o modelo animal pesquisado, foram utilizadas as seguintes *queries* (expressões de pesquisa) na busca por tópico e por título:

- Cupim: termite* AND (cellulose OR cellulase*)
- Caramujo: (Achatina* or Snail*) AND (cellulose OR cellulase*)
- Barata: cockroach* AND (cellulose OR cellulase*)

Visto que a busca por tópico retornou total de 681 artigos, dos quais a vasta maioria apenas mencionava os objetos de busca sem ter relação direta com o tema central desta revisão (i.e., a degradação de biomassa lignocelulósica), optamos por adotar uma estratégia mais restritiva, limitando a busca aos títulos das publicações. Os artigos considerados para esta revisão foram também classificados de acordo com as abordagens metodológicas utilizadas, nas seguintes categorias: atividades de celulasas; degradação/digestão de celulose; expressão de genes para celulasas; alimentação. Foram excluídos artigos que focavam em armadilhas para captura, combate de pragas, modo de vida e criação dos modelos animais estudados. Não foram aplicadas quaisquer restrições baseadas na data de publicação ou idioma do artigo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta, foram obtidos 99 artigos que passaram por uma análise individual com a leitura integral do seu texto. Após esta análise foram excluídos 10 artigos, pois apesar de terem em seu

título as expressões de pesquisa buscadas, não estavam de acordo com as abordagens metodológicas selecionadas para este trabalho. Logo, 89 artigos foram incluídos neste estudo, os quais estão listados em [material suplementar](#). O total de artigos separados por década e modelo animal pode ser verificado na Figura 1a.

As décadas de maior produção de artigos incluem 1971-80, 1991-00, 2001-10 e 2011-20, com a produção de trabalhos variando entre 14 e 21 artigos nesses períodos. Dos artigos analisados, o mais antigo foi publicado em 1955 e o mais recente em 2019.

Cupins são de longe o modelo animal mais estudado nos artigos analisados, totalizando 71 trabalhos. A Figura 1b apresenta a porcentagem de estudos publicados por década, em relação ao modelo animal analisado. Nas duas primeiras décadas analisadas os estudos se concentravam em cupins e caramujos. A partir da década de 70 as baratas começaram a ser vistas como modelos promissores. Genta (2003) demonstra que várias espécies de baratas se alimentam e sobrevivem de diversas fontes alimentares, incluindo compostos ricos em

celulose. Quando se analisa o total de publicações até 2020, cupim foi majoritariamente o modelo mais estudado, com 79,8% de publicações. Seguido do caramujo com 12,3% e as baratas com 7,9%.

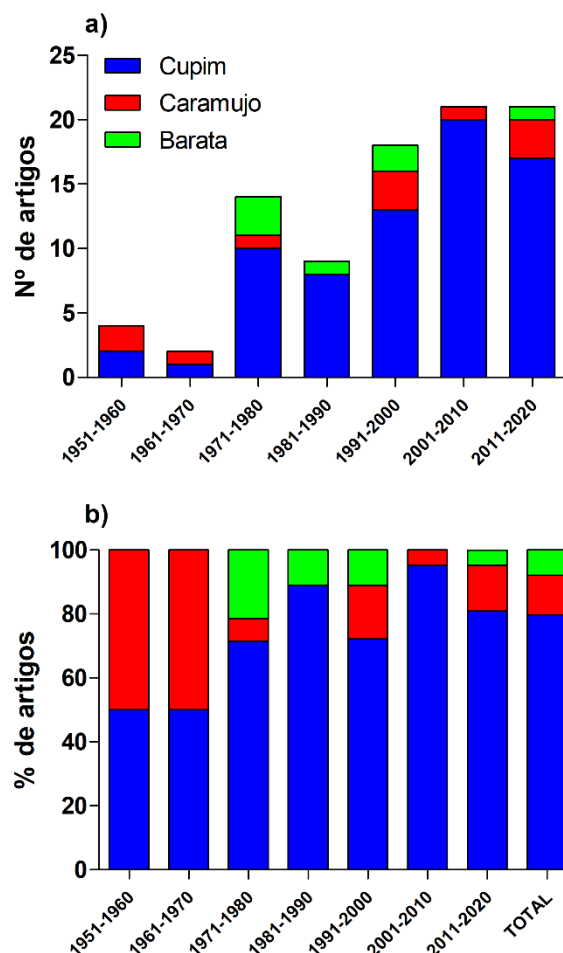


Figura 1: a) Número total de artigos e b) porcentagem de artigos encontrados relacionados a cada modelo animal selecionado (cupim, caramujo e barata) segundo os critérios de busca especificados, separados por décadas. Total de 89 artigos.

Dos 89 artigos analisados, 28 estudaram a atividade das celulases, 44 os processos de

digestão/degradação de celulose, 13 a expressão de genes que codificam celulases e 4 trataram dos processos de alimentação. A Figura 2 relaciona os modelos animais com as abordagens metodológicas utilizadas.

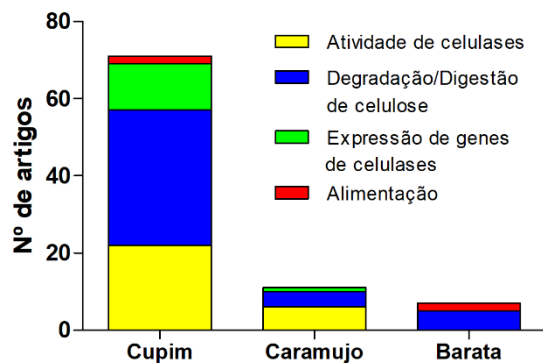


Figura 2: Número total de artigos relacionados aos três modelos animais (cupim, caramujo e barata), divididos por abordagens metodológicas.

Como caramujo e barata foram muito pouco estudados, foi feita uma análise mais detalhada dos trabalhos sobre cupins, conforme mostrado na Figura 3. De acordo com Watanabe e Tokuda (2010), cupins se destacam por apresentarem grande eficiência na digestão de celulose (77-99%) e hemicelulose (65-87%). Este fato sugere que a compreensão dos mecanismos fisiológicos envolvidos no processo de digestão

da celulose, possa facilitar o desenvolvimento de tecnologias mais eficientes para a quebra do polímero de celulose ou hemicelulose, processo esse necessário para a produção de bioetanol de segunda geração.

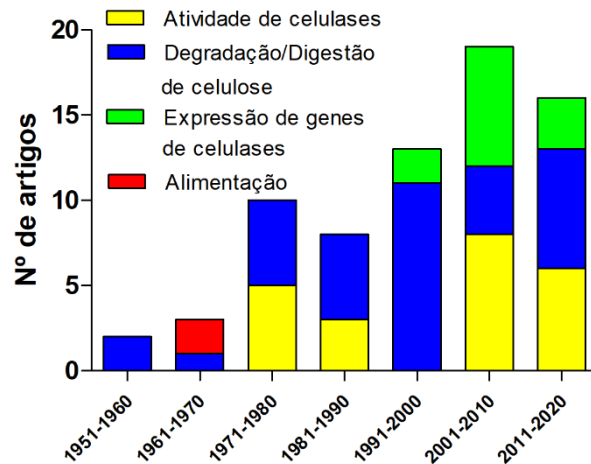


Figura 3: Número total de artigos relacionados especificamente a cupins, divididos por abordagens metodológicas, para cada década. Total de 71 artigos.

Quando se olha para as abordagens metodológicas utilizadas nos trabalhos com cupins, percebe-se que a maioria dos estudos se concentram nos processos de degradação/digestão de celulose. Em todas as décadas analisadas, sempre houve pelo menos um trabalho abordando este tema. Estudos relacionados com expressão de genes que codificam celulases, tiveram início na década de

1990, com o refinamento das tecnologias de análise. Poucos estudos abordaram a alimentação dos cupins. Este fato provavelmente se deve a este tipo de abordagem ser mais comum quando o termo de pesquisa está relacionado com o modo de vida dos cupins e não celulases ou celuloses. Atividade de celulases foi a segunda abordagem metodológica que mais gerou estudos nos períodos analisados. Breznak (2002) mostra que essa atividade enzimática é importante, pois a degradação de celulose por essas enzimas fornece glicose e ácidos graxos que serão utilizados pelo animal como fonte de energia. De acordo com Ward & Singh (2002), essa atividade enzimática dos cupins os torna grandes candidatos para a conversão industrial de lignocelulose em bioetanol de segunda geração.

O trabalho de Bayer *et al* (2007), mostra que a ideia de se utilizar enzimas na degradação de biomassa lignocelulósica, para produção de biocombustíveis é algo recente. Desde então, não se conseguiu desenvolver sistemas enzimáticos artificiais capazes de degradar de forma eficiente fontes naturais de biomassa. Para resolver tal problema, uma das abordagens foi buscar

enzimas em organismos que já fazem isso na natureza.

Quando se compara os três modelos animais, cupins se apresentam como o mais estudado. Pfadt (1978), explica que 10% das espécies de insetos conhecidas (por volta de 90.000) são prejudiciais ao homem. O que justifica um grande número de estudos de sua fisiologia e bioquímica. Terra & Ferreira (2004) explicam que ao longo dos anos, os estudos das enzimas digestivas de cupins tinham como principal objetivo o desenvolvimento de mecanismos para controle populacional.

Por muito tempo se acreditou que apenas os microrganismos existentes no intestino dos cupins eram os únicos responsáveis pela produção de enzimas que degradam celulose (Slayor, 1992). Esse fato pode ter colaborado para que muitos estudos sobre sistema celulósico tenham sido direcionados para bactérias e fungos. Só em 2001 foi comprovado que algumas enzimas (celulases) encontradas no tubo digestivo desses insetos eram produzidas pelos próprios cupins (Watanabe & Tokuda, 2001). Terra & Ferreira (1994) descrevem que as

enzimas digestivas de cupim são muito mais estáveis frente a proteases, quando comparadas a enzimas de outros modelos animais. Uma das características que limitam a utilização de enzimas em processos industriais, é a instabilidade quando confrontadas com proteases. Celulases encontradas no sistema digestivo de caramujos, são produzidas por cepas de bactérias que residem nesse local, conforme descrito por Cardoso (2012). Com isso, os estudos têm enfatizado mais a produção de celulases por bactérias. Este modelo ainda foi mais estudado que as baratas. Isso se deve ao fato de caramujos serem considerados pragas terrestres, conforme mostrado por Raut & Barker (2012), visto que causam prejuízos econômicos e sociais, ao destruírem plantações e causarem doenças.

As baratas foram o modelo animal menos estudado. Bertino-Grimaldi (2013) fala sobre o fato desses animais só produzirem enzimas capazes de degradar compostos celulósicos quando em dieta específica para esse fim. Apesar de produzirem celulases endógenas, a grande maioria dessas enzimas são produzidas por microrganismos presentes em seu trato digestivo.

Logo, os estudos podem ter sido em sua maioria direcionados para sua microbiota.

Em conclusão, os artigos analisados demonstram que cupins, o caramujo africano e baratas são modelos que vêm recebendo atenção nas publicações científicas voltadas para a degradação de biomassa lignocelulósica. Porém, os cupins foram o modelo com predomínio absoluto em relação ao número de publicações, com estudos abordando em sua maioria os processos de degradação/digestão da celulose e atividades das celulases. As celulases encontradas nos caramujos não são produzidas pelo próprio, e sim por bactérias que residem em seu sistema digestório. Já as baratas, até produzem celulases endógenas, mas a maior parte tem como responsáveis os microrganismos presentes em seu trato digestivo. Além disso, a produção de celulases neste modelo animal ocorre apenas quando em dieta específica para esta finalidade. Estes fatos podem ter contribuído para a baixa quantidade de estudos nesses modelos animais, quando comparado aos cupins. Analisando os dados obtidos fica evidente que entre os três modelos, o cupim é o mais promissor no que se

refere a busca de enzimas com alto potencial de degradação de biomassa lignocelulósica, visando a produção de bioetanol de segunda geração.

REFERÊNCIAS

- BERTINO-GRIMALDI, D.; MEDEIROS, M. N.; VIEIRA, R. P.; CARDOSO, A. M.; TURQUE, A. S.; MACHADO, E.A. 2013. Bacterial community composition shifts in the gut of *Periplaneta Americana* fed on different lignocellulosic materials. *Springer Plus*, 2(1), 609.
- BREZNAK, J. A. 2002. Phylogenetic diversity and physiology of termite gut spirochetes. *Integrative and Comparative Biology Oxford*, v.42, pp 13-18.
- CARDOSO, A. M. 2013. Bioprospecção De Novos Genes Para A Indústria Usando Metagenoma E Bioinformática. *Acta Scientiae et Technicae*, [S.l.], v. 1, n. 1.
- EMPRESA DE PESQUISA ENERGÉTICA (BRASIL). Balanço Energético Nacional 2018: Ano base 2017/Empresa de Pesquisa Energética. – Rio de Janeiro.
- FENGEL, D.; WEGENER, G. (Ed.). 2011. *Wood: chemistry, ultrastructure, reactions*. Walter de Gruyter.
- GENTA, F.; FERREIRA, C.; TERRA, W. R. 2003. Action pattern, specificity, lytic activities, and physiological role of five digestive beta-glucanases isolated from *Periplaneta americana*.
- GRANDCOLAS, P.; PELLENS, R.; CONSTANTINO, R. 2024. *Blattaria Burmeister 1829*. Em: Rafael, J. A.; Melo, G.A.R.; Carvalho, C.J.B. de; Casari, S., Constantino, R. (eds). *Insetos do Brasil: Diversidade e Taxonomia*. 2ª ed. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus. 880 p.
- HENDRIKS, A. T.; ZEEMAN, G. 2009. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. *Bioresource technology*, v. 100, n. 1, p. 10-18.
- PFADT, R. E. 1978. *Fundamentos de entomologia aplicada*, 4ª ed. Nova York: Macmillan, 742 p.
- RAUT S. K.; BARKER G. M. 2002. *Achatina fulica* Bowdich e outros Achatinidae como pragas na agricultura tropical. Em: Barker GM (ed)

Moluscos como pragas das culturas. CABI Publishing, Wallingford, pp 55–114.

SIMAS, M.; PACCA, S. 2013. Energia eólica, geração de empregos e desenvolvimento sustentável. *Estud. av. São Paulo*, v. 27, n. 77, p. 99-116.

SUN, J.; ZHOU, X. G. 2011. Utilization of lignocellulose-feeding insects for viable biofuels: an emerging and promising area of entomological science. In: *Recent advances in entomological research*. Springer, Berlin, Heidelberg, p. 434-500.

TAHERZADEH, M.; KARIMI, K. 2008. Pretreatment of lignocellulosic wastes to improve ethanol and biogas production: a review. *International journal of molecular sciences*, v. 9, n. 9, p. 1621-1651.

TERRA W.R.; FERREIRA C. 1994. Insect digestive enzymes: properties, compartmentalization and function. *Comparative Biochemistry and Physiology* 109B: 1-62.

WARD, O.P.; SINGH, A. 2002. Bioethanol technology: development and perspectives. *Advanced in Applied Microbiology*, v.51, pp 53-80.

WATANABE, H.; TOKUDA, G. 2010. Cellulolytic systems in insects. *Annu Rev Entomol.* 55: 609 - 32.

ZHANG, J.; SMITH, K. 2007. Household air pollution from coal and biomass fuels in China: measurements, health impacts, and interventions. *Environmental Health perspectives*, v. 115, n. 6, p. 848-855.