

## A utilização de resíduos das agroindústrias de suco de abacaxi para a produção de bromelina

Layane Alves Ferreira <sup>(1)</sup>,  
Diego Pereira da Silva <sup>(2)</sup>,  
Dário Ribeiro Soares <sup>(3)</sup> e  
Gessiel Newton Scheidt <sup>(4)</sup>

Artigo publicado em outubro/2017

**Resumo** – O abacaxi é um fruto que pertence à família das bromeliáceas. Pode ser cultivado em qualquer região de clima tropical. É bem aceito em todo o mundo, tanto na sua forma natural quanto industrializado. Os países que mais se destacam na produção desta fruta são os Estados Unidos, o Brasil, a Malásia, Taiwan, México e as Filipinas. Este fruto de sabor adocicado e ácido é responsável pela obtenção da bromelina, enzima encontrada em diferentes partes do abacaxizeiro, sendo encontrada nas folhas, caules, suco do fruto, cascas e resíduos industriais. A bromelina se destaca não só por fazer parte do conjunto das proteases como também pela sua variedade de aplicações que vem desde as áreas farmacêuticas, de alimentos até a de cosméticos. Pode-se mencionar seu uso no amaciamento de carnes, na clarificação de cervejas, na fabricação de queijos, no preparo de alimentos dietéticos, no pré-tratamento de soja, no tratamento do couro, na indústria têxtil, no tratamento da lã e da seda. O Brasil possui trabalhos de pesquisa sobre obtenção de bromelina, no entanto necessita ainda de muitas informações a respeito desta; assim, este artigo de revisão busca trazer informações que irão auxiliar pesquisas futuras acerca desta enzima.

**Termos para indexação:** abacaxi, bromelina, resíduos agroindustriais, proteases

## The use of residues from pineapple juice agro-industries for the production of bromelain

**Abstract** – Pineapple is a fruit that belongs to the family of bromeliads. Can be grown in any tropical climate region. It is well accepted throughout the world, both in its natural form as industrialized. The countries that stand out in the production of this fruit are the United States, Brazil, Malaysia, Taiwan, Mexico and the Philippines. This sweet tasting fruit and acid is responsible for obtaining the bromelain, an enzyme that is found in different parts of the pineapple plant, found in the leaves, stems, fruit juice, peel and industrial waste. Bromelain stands out not only to be part of the group of proteases in addition to its variety of applications coming from pharmaceutical areas, from food to cosmetics. It may be mentioned its use in softening meat, the clarification of beers in cheesemaking, in the preparation of dietetic foods, pre-treatment of soybeans in the treatment of leather, textile, wool and the treatment of silk. Brazil has some research papers to obtain bromelain, however still needs a lot of information about this, so this review article seeks to provide information which will assist us in future research.

1 Graduanda em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia; Universidade Federal do Tocantins, 77402-970; Gurupi -TO, Brasil, \*layaneamanda@uft.edu.br

2 Mestre em Biotecnologia (Agroalimentar), Universidade Federal do Tocantins, 77402-970; Gurupi-TO, Brasil, \*diegouft@outlook.com

3 Graduando em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia; Universidade Federal do Tocantins, 77402-970; Gurupi – TO, Brasil, \*dario Ribeiro Soares@hotmail.com

4 Departamento de Ciências Agrárias e Tecnológicas; Universidade Federal do Tocantins; 77402-970; Gurupi-TO, \*scheidt@uft.edu.br

**Index terms:** pineapple, bromelain, agro-industrial waste, proteases

## Introdução

Nos últimos anos a busca por métodos de reaproveitamento de resíduos agroindustriais tem sido pauta para várias pesquisas. O Brasil, por suas condições climáticas e suas vastas extensões de terras produtivas, está entre os maiores produtores de alimentos do mundo, destacando-se na fruticultura. Sobretudo também é um dos que mais desperdiçam, desde a colheita ao processamento. Neste contexto a utilização de resíduos das agroindústrias caracteriza-se como uma via de mão dupla, na conservação dos recursos naturais e agregação de valor ao que antes se tratava de um problema ambiental.

Os resíduos dos processamentos de materiais agrícolas fornecem grandes oportunidades econômicas para os processos biotecnológicos na produção de etanol, enzimas, cogumelos, ácidos orgânicos, aminoácidos, metabólitos secundários, bioativos, entre outros produtos (PANDEY et al. 2007). As indústrias de suco concentrado de fruta no Brasil, como a do abacaxi, processam a matéria-prima gerando uma série de resíduos.

Por ser amplamente cultivado, o abacaxi gera em sua produção uma grande quantidade de resíduos que poderiam ser utilizados para a obtenção de enzimas e outros compostos de grande relevância à indústria. Segundo Baldini et al. (1993), a polpa do abacaxi é a parte comercializável, representando somente 63% do total da planta, enquanto que a parte restante, formada por caule, folha, casca, coroa e talos, é considerada resíduo agrícola, e não tem sido devidamente aproveitada, resultando em perdas econômicas e problemas ambientais. Desta maneira, a utilização destes resíduos agroindustriais advindos do cultivo de abacaxi, que são ricos em proteases, torna-se uma alternativa sustentável para a produção de bromelina, uma enzima com valor comercial e biotecnológico agregado. A bromelina é um conjunto de isoenzimas proteolíticas que são encontradas em plantas da família *Bromeliaceae*, sendo o abacaxi a mais conhecida (ABÍLIO et al., 2009).

As enzimas são moléculas orgânicas presentes nas células de organismos vivos, com a função específica de catalisar reações químicas. Elas aumentam a velocidade com a qual as reações atingem o equilíbrio (SAID; PIETRO, 2002). No grupo das enzimas com fins

comerciais, as proteases desempenham um papel importantíssimo, pois participam de uma série de reações tecnológicas nas indústrias alimentícias, químicas e têxteis (JOO et al., 2003).

A bromelina apresenta diversas aplicações, que são baseadas em sua atividade proteolítica, nas indústrias alimentícias e farmacêuticas. Na indústria de alimentos, atua no amaciamento de carnes e na clarificação de cervejas (ROWAN et al., 1990; HARRACH et al., 1998). Esta enzima pode ser obtida a partir de diferentes partes do abacaxi: folhas, talos, polpa da fruta, cascas e resíduos industriais do processamento do fruto.

A utilização de resíduos de agroindústrias compreende a não agressão ao meio ambiente e a projeção das margens de lucro das empresas processadoras. A grande vantagem é a disponibilidade de matéria-prima, que é oriunda de indústrias que processam o abacaxi e que tem como único objetivo o suco, deixando, assim, quantidades expressivas de resíduos, que podem ser utilizadas. O presente trabalho tem como finalidade realizar uma revisão bibliográfica acerca da utilização de resíduos de abacaxi com o intuito de produção de bromelina, bem como o mercado e as suas aplicações na indústria de alimentos.

### **O abacaxi, produção, utilização e resíduos**

O abacaxi é um pseudofruto comum de regiões tropicais, amplamente consumido *in natura* ou na forma de suco e polpa concentrada. Suas características organolépticas, medicinais e enzimáticas permitiram o grande avanço de seu cultivo ao longo dos séculos e principalmente na atualidade, já que o conhecimento aprofundado de suas características, em especial as enzimáticas, aumentou.

#### **Produção de abacaxi no Brasil**

O abacaxizeiro (*Ananas comosus*) pertence à família *Bromeliaceae*. O cultivo do seu fruto está espalhado por vários países, entre os quais se destaca o Brasil. Conforme relatado pelo IBGE (2013), o Brasil se encontra como um dos líderes mundiais na produção de abacaxi, cultivando 63.204 hectares da fruta (TABELA 1).

Entre as várias espécies de abacaxi, a “Pérola” é a mais cultivada no Brasil, sendo produzida em quase todas as regiões e em quase todos os Estados do país. Líder na produção

de abacaxi na América do Sul e entre os maiores do mundo, o Brasil tem potencial para a utilização de recursos da agroindústria do abacaxi para a obtenção de bromelina com fim comercial.

De acordo com Matos et al. (2006), o abacaxi é considerado a mais importante fruticultura no Estado do Tocantins, onde é cultivado em várias regiões, que vão desde a produção de pequenos agricultores com apenas um hectare ou menos, até grandes pomares com cerca de 100 hectares. Nessas regiões as condições climáticas e de solo são favoráveis para o desenvolvimento das culturas de abacaxi e sua produção. Assim, essas condições tornam possível concentrar a colheita no período de entressafra da produção brasileira, portanto, resultando em uma renda maior para os produtores.

TABELA 1  
 Produção de abacaxi no Brasil por Estado

<b>ESTADOS POR REGIÃO</b>	<b>Área Colhida (ha)</b>	<b>Produção (mil frutos)</b>	<b>Rendimento (fruto/ha)</b>
<i>Norte</i>			
Pará	10.777	320.478	29.737
Amazonas	3.842	78.447	20.418
Tocantins	2.060	41.503	20.147
Rondônia	452	8.730	19.314
Amapá	1.260	7.250	5.754
Acre	519	7.050	13.584
Roraima	231	4.368	18.909
<i>Nordeste</i>			
Paraíba	9.564	285.715	29.874
Rio Grande do Norte	2.986	112.896	37.808
Bahia	5.280	104.741	19.837
Maranhão	1.381	26.638	19.289
Sergipe	772	19.080	24.715
Pernambuco	708	13.067	18.456
Ceará	330	11.247	34.082
Alagoas	471	9.716	20.628
Piauí	-	-	-
<i>Centro-Oeste</i>			
Goiás	2.623	56.177	21.417

Mato Grosso	1.830	41.175	22.500
Mato Grosso do Sul	249	5.240	21.044
Distrito Federal	3	58	19.333
<i>Sudeste</i>			
Minas Gerais	7.896	239.565	30.340
Rio de Janeiro	4.121	120.682	29.285
São Paulo	2.807	76.277	27.174
Espírito Santo	2.287	50.431	22.051
<i>Sul</i>			
Paraná	446	11.371	25.496
Rio Grande do Sul	303	3.823	12.617
Santa Catarina	6	162	27.000
			<b>Rendimento Total (mil frutos/ha)</b>
<b>BRASIL</b>	<b>63.204</b>	<b>1.655.887</b>	<b>26.199</b>

Fonte: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2013, p. 93.

Segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) de 2013, o Estado do Tocantins é o sétimo Estado brasileiro em volume de produção de abacaxi da variedade Pérola. O Estado em 2012 colheu mais de 34 mil toneladas da fruta, gerando um valor bruto de produção na casa dos R\$ 34 milhões. Ao todo, é colhida anualmente uma média de 54 milhões de frutas no Tocantins, o que coloca o Estado em uma posição de destaque no cenário nacional.

### **Indústria de suco de abacaxi e seus resíduos**

Com o aumento da preocupação com o meio ambiente, atualmente percebe-se uma especial atenção ao aproveitamento dos resíduos gerados pelo setor agrícola e pela indústria de alimentos, o que reflete na busca de soluções para reduzir possíveis impactos ambientais e na atribuição de valor às matérias-primas que no passado eram descartadas (PINTO et al., 2005). Os resíduos representam perdas de matérias-primas e energia, resultando em problemas ambientais (PELIZER et al., 2007).

O Brasil, além de ser um dos maiores produtores agrícolas em todo o mundo, vem nos últimos anos se tornando uma grande potência no beneficiamento de sua produção. Produtos que antes eram exportados *in natura* hoje passam por vários processos de industrialização. Devido a isso, pode-se dizer que a agroindústria transformou-se em um importante segmento da economia do país (SOUSA, 2009).

Muitos estudos a respeito da composição de frutas e resíduos agroindustriais brasileiros têm sido realizados com o intuito de que estes sejam aproveitados de forma adequada (VIEIRA et al., 2009). O processamento industrial de frutas em países tropicais é grande, como é o caso do Brasil. A depender da fruta, a produção de resíduos pode chegar a até 50% da matéria-prima (SOUZA, 2009). Considerando que o abacaxi é uma das frutas com maior destaque de produção no Brasil e boa parte dos seus resíduos é destinada ao processamento em agroindústrias que deles produzem um alto valor, considerando ainda que normalmente tais resíduos são ricos em nutrientes, sua utilização se revela como uma ótima alternativa alimentar (MENDES, 2013).

### **Proteases**

O estudo das proteases iniciou-se no fim do século XVI motivado pelo interesse na fisiologia do sistema digestivo humano. Entretanto, já na antiguidade, tecidos animais, vegetais e outros materiais biológicos ricos em proteases eram, de forma empírica, usados no preparo de queijos e no tratamento de couros, tendo sido as proteases as primeiras enzimas com aplicação tecnológica. A relevância biotecnológica deste grupo de enzimas, rico em diversidade estrutural e mecanismos de ação, reflete-se atualmente na importância qualitativa e quantitativa das suas aplicações como enzimas industriais e especiais. As enzimas proteolíticas têm sido tradicionalmente conhecidas por proteases, sendo o termo peptidases mais utilizado para enzimas capazes de hidrolisar pequenos peptídeos (VERMELHO et al., 2008).

As proteases são um grupo de enzimas proteolíticas, que promovem a clivagem de ligações peptídicas em proteínas. De acordo com a posição desta ligação peptídica a ser

quebrada na proteína, as proteases são divididas em endopeptidases (EC 3.4. 21-99) e exopeptidases (EC 3.4.11-19). São ainda subdivididas em conformidade com o grupo reativo presente em seu sítio ativo.

As enzimas, em especial as proteases, têm-se tornado uma parte essencial e indispensável em muitos processos industriais, tais como a produção de detergentes, produtos farmacêuticos e produtos alimentares (NASCIMENTO; MARTINS, 2006). Proteases estão envolvidas em diversos processos biológicos como diferenciação e morte celular, coagulação sanguínea, além de estarem presentes em ciclos de infecção microbiana e viral. Estas enzimas possuem um amplo valor comercial agregado devido a sua importância em processos fisiológicos e de interesse industriais já descritos; a hidrólise de proteínas em peptídeos e aminoácidos por proteases promove a facilitação da absorção destes pelas células do corpo, atrelando ainda maior valor a esta classe de enzima.

Conforme descrito por Vishwanatha (2010), o mercado dessas enzimas representa aproximadamente 65% do total de enzimas comercializadas no mundo.

### **Bromelina**

Enzimas são catalisadores naturais que podem acelerar a reação dos processos químicos, diminuindo a energia necessária para que possa ocorrer a reação sem a modificação do sistema. Com o aumento do uso de enzimas nas indústrias, tornou-se possível um estudo mais abrangente destas e com isso pode-se perceber que, entre várias outras enzimas industriais, a bromelina se destaca por ser um conjunto de enzimas proteolíticas encontradas nos vegetais da família bromeliácea, da qual o abacaxi é o mais conhecido. (LEHNINGER; NELSON; COX, 1995; CÉSAR, 2005).

A bromelina se eleva não só por fazer parte do conjunto das proteases como também pela sua variedade de aplicações que vem desde as áreas farmacêuticas, de alimentos até a de cosméticos. Pode-se mencionar seu uso no amaciamento de carnes, na clarificação de cervejas, na fabricação de queijos, no preparo de alimentos infantis e dietéticos, no pré-

tratamento da soja, no tratamento do couro, na indústria têxtil, no tratamento da lã e da seda, etc. (CÉSAR, 2005).

A bromelina pode ser obtida das folhas, talos, polpas da fruta, cascas e de resíduos industriais do processamento do abacaxi (LEHNINGER; NELSON; COX, 1995; GODOI, 2007). A bromelina não está presente nos primeiros estágios de crescimento do fruto, porém seu nível aumenta rapidamente, mantendo-se elevado até o amadurecimento, quando tem um pequeno decréscimo. Essa é uma das vantagens do uso das proteases do abacaxi em comparação com outras proteases vegetais. Embora haja uma diminuição da atividade proteolítica durante a maturação, o abacaxi é o único fruto que possui concentrações relativamente altas de proteases no estado maduro (CÉSAR, 2005).

#### Mercado de bromelina

O mercado das enzimas industriais está dividido em três grandes segmentos: enzimas técnicas, enzimas para alimentos e bebidas e enzimas para ração animal. Inovação, enzimas e bioeconomia são hoje, e continuarão sendo no futuro, um trinômio indissociável. Os grandes danos e problemas ambientais que se estendem por todo o planeta reportam-se, em larga escala, à economia e à gestão dos recursos naturais (SÁ-PEREIRA et al., 2008).

Como resultado da ampla variedade de aplicações de bromelina, existe uma grande procura pela enzima. Assim, a bromelina comercial altamente purificada não é barata, podendo o custo chegar a até US\$ 2.400 por quilo (KETNAWA et al., 2012).

#### Aplicação da bromelina

A bromelina exibe diversos usos, baseados em sua atividade proteolítica, como nas indústrias alimentícias e farmacêuticas, no amaciamento de carnes, na clarificação de cervejas, na fabricação de queijos, no preparo de alimentos infantis e dietéticos, no pré-tratamento de soja, no tratamento do couro, na indústria têxtil, no tratamento da lã e da seda, no tratamento de distúrbios digestivos, feridas e inflamações, entre outros (BORRACINI, 2006). Em indústrias têxteis, a bromelina é utilizada para melhorar as propriedades de



tingimento de fibras de proteína, ou decomposição e solubilização parcial da fibra de proteína de seda e lã (KOH et al., 2006).

Além de aplicações têxteis e alimentícias, uma aplicação notável da bromelina é sua utilização na área da saúde, tanto animal como humana. Há muitos anos, nativos de diversos países tropicais se beneficiam da bromelina advinda do abacaxi, mesmo sem o conhecimento da presença desta enzima em seu suco. Utilizações como vermífugos, cicatrizantes e anti-inflamatórios são descritas ao longo da história. Atualmente a enzimologia possibilitou o conhecimento a respeito dessas propriedades da bromelina, chegando até mesmo a descrever utilizações como inibição de células cancerígenas.

### **Considerações finais**

Advinda de frutas da família das bromeliáceas, principalmente do abacaxi, a bromelina é uma enzima proteolítica de grande valor comercial, devido a sua larga utilização em indústria alimentícia e farmacêutica. A bromelina é encontrada no abacaxi, em sua polpa, talos e folhas, o que permite a utilização quase total do abacaxizeiro. O Brasil, como um dos maiores produtores de abacaxi do mundo, gera grandes quantidades de resíduos agroindustriais, que podem passar a ter um valor comercial se utilizados para outros fins que não o descarte. A extração de bromelina a partir de resíduos agroindustriais da produção de abacaxi pode se tornar vantajosa, tanto aos produtores do fruto e ao mercado de enzimas quanto ao meio ambiente, já que boa parte dos resíduos que eram descartados serão reutilizados para outros fins.

### **Referências**

ABÍLIO, G. M. F.; HOLSCHUH, H. J.; BORA, P. S.; OLIVEIRA, E. F. de. Extração, atividade da bromelina e análise de alguns parâmetros químicos em cultivares de abacaxi. **Rev. Bras. Frutic.** v. 31, n. 4, p. 1117-1121, 2009.

BALDINI, V.L.S.; IADEROZA, M.; FERREIRA, E.A.H.; SALES, A.M.; DRAETTA, I.S. e GIACOMELLI, E.J. Ocorrência da bromelina e cultivares de abacaxizeiro. **Colet. Inst. Tecnol. Alimentos**, v. 23, n.1, p. 44-55, 1993.

BORRACINI, H. M. P. **Estudo do processo de extração da bromelina por micelas reversas em sistema descontínuo.** Dissertação de Mestrado (Mestrado em Engenharia Química) - Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.

CÉSAR, A. C. W. **Análise de viabilidade econômica de um processo de extração e purificação da bromelina do abacaxi.** Dissertação de Mestrado (Mestrado em Engenharia Química) - Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

GODOI, P. H. **Estudo da atividade enzimática da bromelina pura em solução em diferentes temperaturas e pH.** Dissertação de Mestrado (Mestrado em Engenharia Química) - Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.

HARRACH, T. et al. Isolation and Characterization of Two Forms of an Acidic Bromelain Stem Proteinase. **Journal of Protein Chemistry**, v. 17, n. 4, p. 351-361, 1998.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Produção Agrícola Municipal – PAM.** Rio de Janeiro: IBGE, 2009, p. 93.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Produção Agrícola Municipal – PAM.** Rio de Janeiro: IBGE, 2013, p. 93.

JOO, H.S.; CHANG, C.S.; KUMAR, C.G. Oxidant and SDS-stable alkaline protease from *Bacillus clausii* I-52: production and some properties. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, UK, v. 95, p. 267-272, 2003.

KETNAWA, S.; CHAIWUT, P.; RAWDKUEN, S. Pineapple Wastes: A Potential Source for Bromelain Extraction. **Food and Bioproducts Processing**, v. 90, p. 385-391, 2012.

KOH, J.; KANG, S.M; KIM, S.J.; CHA, M.K. KWON, Y.J. Effect of Pineapple protease on the characteristics of protein fibers. **Fibers and Polymers**, v. 7, 180-185, 2006.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica.** São Paulo: Sarvier, 1995.

MATOS, A. P. de; SOUZA, L. F. da S.; SANCHES, N. F.; ELIAS JR., J.; TEIXEIRA, F. A. Integrated pineapple production in Brazil: an R&D project. **Pineapple News**, n.13, p. 16-17, 2006.

MENDES, B. A. B. **Obtenção, caracterização e aplicação de farinha das cascas de abacaxi e de manga.** Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, 2013.

NASCIMENTO, W. C. A.; MARTINS, M. L. L. Studies on the stability of protease from *Bacillus* sp. and its compatibility with commercial detergent. **Brazilian Journal of Microbiology [online]**. n. 3, vol. 37, p. 307-311, 2006.

PANDEY, A.; SOCCOL, C. R.; LARROCHE, C. **Current Developments in Solid State Fermentation**. Asian tech Publishers, New Delhi, p. 517, 2007.

ROWAN, A. D.; BUTTLE, D. J.; BARRETT, A. J. The cysteine proteinases of the pineapple plant. **Biochem J**, v. 266, n. 3, p. 869-75, 1990.

SAID, S.; PIETRO, R. **Enzimas de interesse industrial e biotecnológico**. Rio de Janeiro: Editora Eventos, 2002.

SÁ-PEREIRA, P.; DUARTE, J. C.; FERREIRA, M. A.; LACERDA, P. S. B.; ALVES, F. C. Biotatálise: estratégias de inovação e criação de mercados. In: BOM, E. P. S.; FERREIRA, M. A.; CORVO, M. L. *Enzimas em biotecnologia: produção, aplicações e mercado*. Rio de Janeiro: **Interciência**, 2008. p. 433-462.

SOUSA, B.A.A. **Funcionalidade dos extratos fenólicos obtidos pelo cultivo semi-sólido de resíduos de abacaxi (*Ananas comosus* L.) e goiaba (*Psidium guajava* L.)**. 120 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Centro de Tecnologia do Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2009.

VERMELHO, A. B.; MELO, A. C. N.; SÁ, M. H. B.; SANTOS, A. L. S.; D'AVILA-LEVY, C. M.; BOM, P. S. Enzimas proteolíticas: Aplicações biotecnológicas. In: BOM, E. P. S.; FERREIRA, M. A.; CORVO, M. L. *Enzimas em biotecnologia: produção, aplicações e mercado*. Rio de Janeiro: **Interciência**, 2008. p. 273-287.

VIEIRA, P. A. F.; QUEIROZ, J. H.; VIEIRA, B. C.; MENDES, F. Q.; BARBOSA, A. A.; MULLER, E. S.; SANT'ANA, R. C. O.; MORAES, G. H. K. Caracterização química do resíduo do processamento agroindustrial da manga (*Mangifera Indica* L.) **Var. Ubá. Alimentos e Nutrição**. v. 20, n. 4, p.617-623. 2009.

VISHWANATHA, K. S.; RAO, A. G. A.; SINGH, S. A. Acid protease production by solid-state fermentation using *Aspergillus oryzae* MTCC 5341: optimization of process parameters. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, Heidelberg**, v. 37, p. 129-138, 2010.