

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS-UGD
FACULDADE DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E AMBIENTAIS
GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

CAMYLLA MARIA MATAS DA SILVA

**CARACTERIZAÇÃO DE PECTINASE PRODUZIDA POR CULTIVO EM ESTADO
SÓLIDO DO FUNGO *Pycnoporus sanguineus* EM RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS**

**DOURADOS-MS
2023**

CAMYLLA MARIA MATAS DA SILVA

CARACTERIZAÇÃO DE PECTINASE PRODUZIDA POR CULTIVO EM ESTADO SÓLIDO DO FUNGO *Pycnoporus sanguineus* EM RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS

ORIENTADOR: PROF. DR. RODRIGO SIMÕES RIBEIRO LEITE

Trabalho de conclusão de curso à Universidade Federal da Grande Dourados-UFGD, como parte das exigências do Curso de Bacharelado em Biotecnologia.

**DOURADOS – MS
2023**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

S586c Silva, Camylla Maria Matas Da

Caracterização De Pectinase Produzida Por Cultivo Em Estado Sólido Do Fungo *Pycnoporus sanguineus* Em Resíduos Agroindustriais [recurso eletrônico] / Camylla Maria Matas Da Silva. -- 2023.

Arquivo em formato pdf.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Simões Ribeiro Leite.

TCC (Graduação em Biotecnologia)-Universidade Federal da Grande Dourados, 2023.

Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:

<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

1. Resíduos agroindustriais. 2. Enzimas lignocelulósicas. 3. Basidiomicetos. I. Leite, Prof. Dr. Rodrigo Simões Ribeiro. II. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.

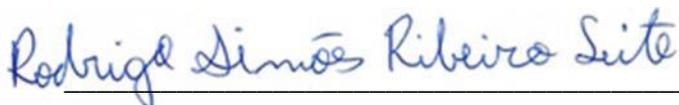
Camylla Maria Matas da Silva

CARACTERIZAÇÃO DE PECTINASE PRODUZIDA POR CULTIVO EM ESTADO SÓLIDO DO FUNGO *Pycnoporus sanguineus* EM RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado pela Banca Examinadora como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia, da Universidade Federal da Grande Dourados.

Aprovado em: 19 de abril de 2023.

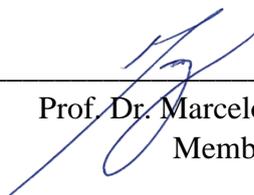
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Rodrigo Simões Ribeiro Leite
Presidente



Prof. Dr. Alessandro Minillo
Membro



Prof. Dr. Marcelo Fossa da Paz
Membro

“A sorte favorece a mente bem preparada”.

(Louis Pasteur)

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Gilberto e Renata, e irmão Caio por todo apoio, amor e dedicação que tiveram durante todos esses anos. Não foram anos fáceis, mas com muito esforço foi possível realizar o meu sonho.

Ao meu Amado José por todo apoio, motivação e paciência nesses últimos meses.

Ao meu orientador Prof. Dr. Rodrigo Simões Ribeiro Leite, pelo acolhimento em seu grupo de pesquisa, pela dedicação, paciência e conhecimentos transmitidos durante todo esse período de trabalho. A você professor toda a minha admiração e gratidão.

Ao meu companheiro de laboratório Asser pela amizade, pelo apoio, pelas risadas e pela contribuição para a realização deste trabalho. Foi muito importante nesta etapa para deixar tudo mais leve.

A Gabriela pela dedicação e paciência em ensinar durante a realização deste trabalho.

Aos meus amigos de faculdade Rafael, Caroline e Izabella pelo carinho, pelo companheirismo, pela força e pelos momentos incríveis em todos esses anos na faculdade, amizades que levarei para a vida toda.

Aos membros do LEPFER que sempre estavam presentes, muito obrigada por todo apoio.

A todos que de alguma maneira colaboraram para o desenvolvimento deste trabalho com sugestões, críticas e especialmente amizade.

RESUMO: As pectinases são enzimas capazes de reduzir o grau de polimerização da pectina, sendo aplicadas pelas indústrias de alimentos e bebidas na redução da viscosidade de sucos, polpas e vinhos. Entretanto, o elevado custo de produção desses biocatalisadores dificulta sua aplicação em larga escala. Deste modo, este trabalho teve por objetivo avaliar as características físico-químicas de pectinases obtidas por cultivo em estado sólido do fungo *Pycnoporus sanguineus* em farelo de trigo (resíduo agroindustrial). A enzima apresentou maior atividade catalítica quando incubada em pH 3,5 a 50°C. A atividade enzimática foi mantida após 24 horas em pH 5,0 a 9,0. A enzima manteve-se estável por 1 hora a 70°C. A cromatográfica em camada delgada demonstrou que o ácido galacturônico como principal produto de hidrólise da pectina, sugerindo que o extrato enzimático apresenta elevada atividade de exo-poliagalacturonase. As características catalíticas apresentadas pela enzima, estimulam a continuidade do trabalho, visando à obtenção de biocatalisadores de baixo custo para aplicação industrial.

Palavras-chaves: Resíduos agroindustriais; enzimas lignocelulósicas; basidiomicetos.

ABSTRACT: Pectinases are enzymes capable of reducing the degree of polymerization of pectin, and are applied by the food and beverage industries to reduce the viscosity of juices, pulps, and wines. However, the high production cost of these biocatalysts hinders their large-scale application. Therefore, this study aimed to evaluate the physicochemical characteristics of pectinases obtained by solid-state cultivation of the fungus *Pycnoporus sanguineus* on wheat bran (an agro-industrial residue). The enzyme showed higher catalytic activity when incubated at pH 3.5 at 50°C. The enzymatic activity was maintained after 24 hours at pH 5.0 to 9.0. The enzyme remained stable for 1 hour at 70°C. Thin-layer chromatography demonstrated that galacturonic acid was the main hydrolysis product of pectin, indicating that the enzymatic extract has high exo-polygalacturonase activity. The catalytic characteristics presented by the enzyme encourage the continuation of the work, aiming at obtaining low-cost biocatalysts for industrial application.

Keywords: Agroindustrial residues; lignocellulosic enzymes; basidiomycetes.

Sumário

1. INTRODUÇÃO	9
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	10
2.1 Microrganismo	10
2.2 Inoculo.....	10
2.3 Produção de pectinase por Cultivo em Estado Sólido (CES).....	10
2.4 Extração das enzimas.....	11
2.5 Determinação da atividade de pectinase	11
2.6 Caracterização bioquímica de pectinase produzida em CES.....	11
2.6.1 Efeito do pH e da temperatura.....	11
2.7 Análise cromatográfica em camada delgada (TLC) em produtos.....	11
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	12
3.2 Efeito de pH e temperatura sobre a atividade enzimática	12
3.3 pH e temperatura de estabilidade.....	13
3.4 Cromatografia em camada delgada	14
4. CONCLUSÃO.....	15
5. REFERÊNCIA	15

1. INTRODUÇÃO

As enzimas são moléculas orgânicas de natureza proteica que atuam como catalisadores biológicos em inúmeros segmentos industriais, podendo ser empregadas no tratamento de couro, desenvolvimento de biocombustíveis, produção de alimentos fermentados e detergentes enzimáticos de alta eficiência (OSBON; KUMAR, 2019). Deste modo, o emprego de biocatalizadores apresenta inúmeros benefícios quando comparados aos processos químicos convencionais, principalmente quando se trata de sustentabilidade, lucratividade e eficiência na reação (SINGH et al., 2016).

Tendo em vista as vantagens descritas anteriormente, as enzimas são utilizadas em vários setores, incluindo a produção de compostos bioativos e novos biopolímeros, métodos analíticos através de biossensores, terapia enzimática e processos nas indústrias tradicionais como óleos e gorduras, curtumes, papel e celulose, têxtil e cosmético (HASAN et al., 2006).

As enzimas pectinolíticas foram uma das primeiras a serem utilizadas em processos industriais desde o início dos anos 1930, em preparações de vinhos e sucos de frutas, mas foi apenas a partir de 1960, com o avanço dos conhecimentos sobre a química dos tecidos vegetais, que os cientistas começaram a usá-las de forma mais efetiva (VORAGEM et al., 1995).

As pectinases resistentes ao calor seriam muito úteis também na degradação de pectina presente nos resíduos gerados pelo processamento de materiais vegetais, ajudando a reduzir a Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) e a Demanda Química de Oxigênio (DQO). Além disso, elas seriam úteis no processamento e desengomagem de fibras têxteis, pois temperaturas elevadas ajudariam a diminuir a presença de contaminação por microrganismos aeróbios (GOMES et al., 2007).

Para a extração de açúcar da beterraba, a polpa precisa passar pelo processo de despectinização para aumentar a eficiência, considerando que mais de 30% do peso seco da beterraba é composto por pectina. Industrialmente, essa extração é feita a cerca de 70 °C, dessa forma, o emprego de pectinases termoestáveis para realizar a despectinização simultaneamente a extração seria uma opção economicamente interessante (SINGH et al., 1999).

A produção dessas enzimas é influenciada pelos componentes do meio de cultura, especialmente a fonte de carbono, a presença de indutores (pectina e derivados) e as condições de cultivo, como pH, temperatura, aeração, agitação e tempo de incubação (THOMAS et al., 2013). Quanto às técnicas de produção, o cultivo em estado sólido pode ser empregado, pois permite a produção de enzimas mais concentradas e apresenta reduzido

custo. Os substratos típicos, neste tipo de processo, são resíduos agroindustriais como: cascas de frutas cítricas, bagaço de beterraba e farelo de trigo, por serem fontes alternativas de energia para o crescimento microbiano e apresentarem ampla disponibilidade (PANDEY, 2003).

Neste contexto, com o presente trabalho objetivou-se caracterizar pectinases obtidas em cultivo de estado sólido de *Pycnoporus sanguineus* em resíduos agroindustriais.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Microrganismo

No presente trabalho foi utilizado o fungo filamentosso mesófilo *Pycnoporus sanguineus*. O microrganismo foi isolado de troncos de árvores situadas em vegetação de Cerrado da região de Dourados – MS (22°10'49.2"S - 54°56'57.4"W), e identificado pela Micoteca URM da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE. A linhagem foi mantida no Laboratório de Enzimologia e Processos Fermentativos (LEPFER) da Universidade Federal da Grande Dourados, sendo armazenada em meio ágar *Sabouraud dextrose*, seguido ao crescimento a 28 °C por 96 horas e posteriormente armazenada a 4 °C.

2.2 Inóculo

O fungo *P. sanguineus* foi cultivado em frascos Erlenmeyer de 250 mL contendo 40 mL do meio ágar *Sabouraud Dextrose* inclinado, mantido por 48 horas a 28 °C. A suspensão do microrganismo foi obtida pela raspagem suave da superfície do meio de cultura empregando 25 mL de solução nutriente (0,1% de sulfato de amônio, 0,1% sulfato de magnésio heptahidratado e 0,1% nitrato de amônio - m/v). A inoculação do fungo nos substratos (resíduos agroindustriais) se deu pela transferência de 5 mL desta suspensão, perfazendo 5 mg de massa micelial seca/grama de substrato seco (Adaptado de: MARTINS et al., 2019).

2.3 Produção de pectinase por Cultivo em Estado Sólido (CES)

Para a produção da pectinase o fungo *P. sanguineus* foi cultivado em farelo de trigo, contendo 65% de umidade inicial, mantido por 96 h a 35 °C (VIDEIRA, 2021).

2.4 Extração das enzimas

A extração das enzimas a partir dos resíduos miceliados foi realizada pela adição de 50 mL de água destilada, mantidos em agitação de 100 rpm por 1 hora. As amostras foram filtradas em tecido de nylon e centrifugadas a $1.500 \times g$ por 5 minutos. O sobrenadante foi considerado extrato enzimático e utilizado nas etapas seguintes (SANTOS et al., 2016).

2.5 Determinação da atividade de pectinase

A atividade de pectinase foi determinada com 0,2 mL de extrato enzimático, 0,8 mL de tampão acetato de sódio 100 mM, pH 4,5, contendo 1% pectina cítrica, reagindo por 10 minutos a temperatura de 50°C. O açúcar redutor liberado foi quantificado pelo método de DNS (MILLER, 1959) e a leitura em espectrofotômetro foi a 540 nm. Uma unidade de atividade enzimática foi definida como a quantidade de enzima capaz de liberar 1 μmol de açúcar redutor por minuto de reação.

2.6 Caracterização bioquímica de pectinase produzida em CES

2.6.1 Efeito do pH e da temperatura

O pH ótimo foi determinado mensurando a atividade enzimática a 50 °C com diferentes condições de pH (3,0-8,0) usando solução tampão McIlvaine 0,1 M. A temperatura ótima foi determinada medindo a atividade enzimática de 30 a 75 °C no respectivo pH ótimo da enzima. A estabilidade enzimática às variações de pH foi avaliada incubando a enzima a 25 °C por 24 horas em diferentes valores de pH. As seguintes soluções tampão foram usados: McIlvaine 0,1 M (3,0-8,0), Tris-HCl 0,1 M (8,0-8,5) e Glicina-NaOH 0,1 M (8,5-10,5). A termoestabilidade enzimática foi avaliada incubando a enzima por 1 hora em diferentes temperaturas (30-75 °C). A atividade residual foi determinada nas condições ótimas de pH e temperatura (LEITE et al., 2008).

2.7 Cromatográfica em camada delgada (TLC) dos produtos de hidrólise enzimática

A análise cromatográfica dos produtos da hidrólise da pectinase sobre a pectina cítrica foi realizada usando cromatografia em camada delgada (TLC). A mistura de reação (0,01 mL) foi aplicada em placas de sílica gel (G-60, 10 \times 15 cm) e submetida a corrida cromatográfica ascendente usando butanol/etanol/água (5:3:2) como fase móvel. Depois de secar a placa ao ar, as manchas foram reveladas pulverizando uma solução de H₂SO₄ e metanol (1:9) contendo 0,2% de orcinol e aquecendo a 100 °C (SILVA et al., 2013). Pectina e ácido galacturônico (0,1% p/v) foram usados como padrões.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.2 Efeito de pH e temperatura sobre a atividade enzimática

A pectinase produzida por *P. sanguineus* apresentou atividade ótima em pH 3,5 (Figura 1). No entanto, elevada atividade enzimática foi observada no intervalo de pH de 3,0 - 4,0.

A influência do pH na atividade enzimática é um assunto amplamente conhecido (GOMES et al., 2007). Variações no valor do pH alteram a conformação das enzimas, resultando no aumento ou diminuição da atividade catalítica. Dessa forma, determinar o pH ideal para a atividade enzimática é imprescindível para a aplicação tecnológica de uma enzima (NEVES, 2003).

Segundo Carvalho et al. (2020) a pectinase produzida pelo fungo *Aspergillus acutatus* apresentou o pH ótimo na faixa de 3,0 e 5,0, valores próximos aos encontrados no presente trabalho.

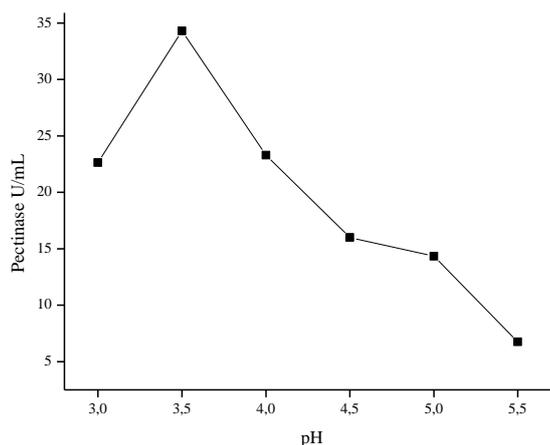


Figura 1: Efeito do pH ótimo da pectinase produzida pelo fungo *P. sanguineus*.

A temperatura ótima da pectinase produzida pelo fungo *P. sanguineus* foi de 50 °C (Figura 2). A temperatura ótima de atividade enzimática é uma das propriedades biológicas que varia de acordo com o microrganismo produtor e com as condições de cultivo em que as enzimas são produzidas (BISSWANGER, 2014).

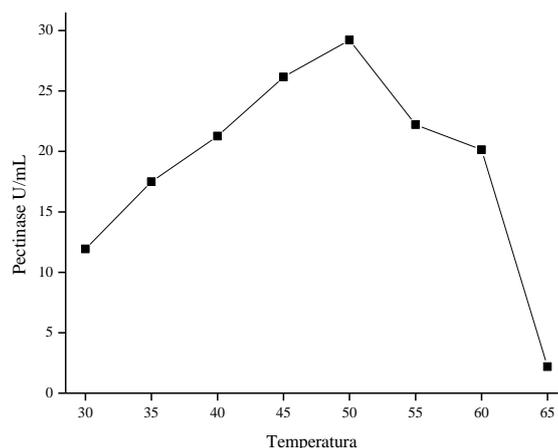


Figura 2: Temperatura ótima da pectinase produzida pelo fungo *P. sanguineus*.

De modo geral as enzimas que são produzidas por microrganismos mesófilos apresentam temperatura ótima inferiores a 60 °C (GARCIA et al., 2018). Dessa forma, é possível afirmar que a pectinase produzida por *P. sanguineus* apresentou temperatura ótima de acordo com o esperado.

3.3 pH e temperatura de estabilidade

Em relação a estabilidade ao pH, a pectinase produzida pelo fungo *P. sanguineus* manteve sua atividade original, após ser incubada por 24 horas na faixa de pH 6,0 – 9,0 (Figura 3).

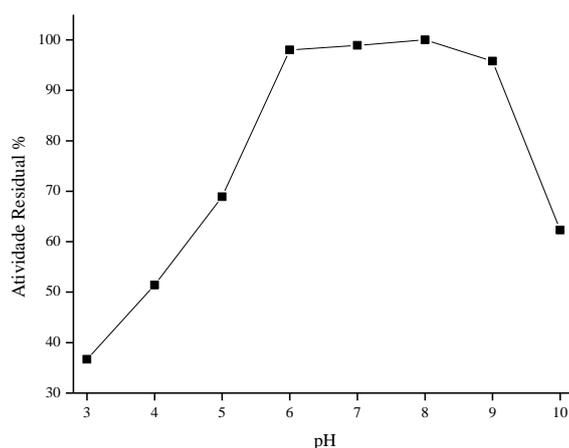


Figura 3: Estabilidade ao pH da pectinase produzido pelo fungo *P. sanguineus*.

A manutenção da atividade enzimática em ampla faixa de pH é uma vantagem para aplicação industrial, porque requer menores ajustes de pH entre os processos industriais distintos (MICHELIN et al., 2008).

Com relação a temperatura de estabilidade, a pectinase produzida por *P. sanguineus* reteve 80% de sua atividade catalítica após 1 hora a 70 °C (Figura 4). Elevada termoestabilidade é frequentemente descrita para enzimas produzidas por microrganismos termófilos, não sendo comum para enzimas provenientes de cultivos de fungos mesófilos (GOMES et al., 2007). Por exemplo: Silva (2021) relataram a desnaturação da pectinase produzida pelo fungo *Aspergillus terreus* em 50 °C. Segundo os autores a atividade enzimática foi reduzida em 50% após 5 min de incubação na referida temperatura.

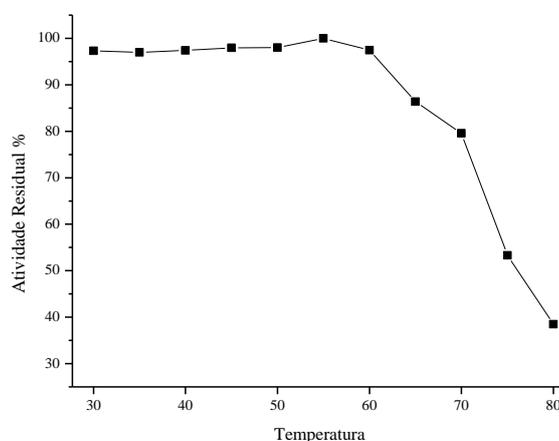


Figura 4: Estabilidade à temperatura de pectinase produzida pelo fungo *P. sanguineus*.

A termoestabilidade é uma característica muito desejável para aplicação industrial de um biocatalizador, visto que a maioria dos processos industriais requer enzimas com elevada estabilidade estrutural (GOMES et al., 2007).

De forma geral, as enzimas secretadas no meio extracelular tendem a apresentar maior estabilidade estrutural, em relação às enzimas intracelulares, principalmente quando produzidas por cultivo em estado sólido (PANDEY et al., 2006). A maioria das enzimas extracelulares têm carboidratos ligados à sua estrutura, o que confere a elas maior estabilidade estrutural (OKUYAMA et al., 2005).

3.4 Cromatografia em camada delgada

Análises em cromatografia em camada delgada demonstraram a presença de ácido galacturônico como principal produto de hidrólise da pectina, posteriormente ao tratamento

com o extrato enzimático produzido por *P. sanguineus*, independente do tempo de exposição (Figura 5). Dessa forma, é possível inferir que o referido extrato enzimático apresenta elevada atividade de exo-ploligalacturonase, por apresentar monossacarídeos como o principal produto de hidrólise e ausência de oligossacarídeos nas condições de ensaio analisadas.

Este mesmo comportamento enzimático foi observado pela pectinase produzida pelo fungo *Aspergillus terreus*, que catalisou a hidrólise da extremidade da cadeia do ácido poligalacturônico, sendo classificada como exo-ploligalacturonase (SILVA, 2021).

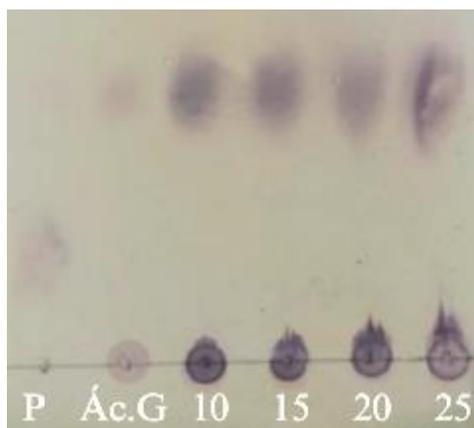


Figura 5: Cromatografia em camada delgada (TLC) nos tempos de 10, 15, 20 e 25 minutos. Pectina(P); Ácido galacturônico (Ac.G); Tempo de tratamento em minutos (10, 15, 20 e 25).

4. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos no presente trabalho indicam que a pectinase produzida pelo fungo *Pycnoporus sanguineus* apresentou elevada estabilidade estrutural, característica essa muito apreciável para aplicação e processos industriais. O extrato enzimático produzido pelo fungo *P. sanguineus* quando cultivado em farelo de trigo, apresenta predominantemente atividade de exo-ploligalacturonase.

5. REFERÊNCIAS

BISSWANGER, H. Enzyme assays. **Perspectives in Science**. v.1, n.6, p. 41-55, 2014.

DE CARVALHO, L. M. J.; CARDOSO, F. D. S. N.; KOBLITZ, M. G. B.; ORTIZ, G. M. D.; DE CARVALHO, J. L. V. Parâmetros de encapsulação de pectinase comercial em alginato de cálcio e seu efeito na atividade catalítica. 2020.

GARCIA, N.FL.; SANTOS, F. R. S.; BOCCHINI, D.A.; PAZ, M. F.; FONSECA, G. G.; LEITE, R. S.R. Catalytic properties of cellulases and hemicellulases produced by *Lichtheimia ramosa*:

potential for sugarcane bagasse saccharification. **Industrial Crops and Products**, v. 122, p. 49-56, 2018.

GOMES, E.; GUEZ, M. A. U.; MARTIN, N.; SILVA, R. D. Thermostable enzymes: sources, production and industrial applications. **Química Nova**, v. 30, p. 136-145, 2007.

HASAN, F.; SHAH, A. A.; HAMEED, A. Industrial applications of microbial lipases. **Enzyme and microbial technology**, v. 39, n. 2, p. 235-251, 2006.

LEITE, R. S. R.; ALVES-PRADO, H. F.; CABRAL, F. C.; PAGNOCCA, E. GOMES, AND R. DA-SILVA. Production and characteristics comparison of crude β -glucosidases produced by microorganisms *Thermoascus aurantiacus* e *Aureobasidium pullulans* in agricultural wastes. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 43, n. 6, p. 391-395, 2008.

MARTINS, E. D. S.; GOMES, E.; DA SILVA, R.; JUNIOR, R. B. Production of cellulases by *Thermomucor indicae-seudaticae*: characterization of a thermophilic β -glucosidase. **Preparative Biochemistry and Biotechnology**, v. 49, n. 8, p. 830-836, 2019.

MICHELIN, M.; RULLER, R.; WARD, R.J.; MORAES, L.A.B.; JORGE, J.A.; TERENCEZI, H.F.; POLIZELI, M. L. T. M. Purification and biochemical characterization of a thermostable extracellular glucoamylase produced by the thermotolerant fungus *Paecilomyces variotii*. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 35, n. 1, p. 17–25, 2008. doi: 10.1007/s10295-007-0261-1

MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, v.31, p. 426-428, 1959.

NEVES, L. C. M. Obtenção da enzima glicose 6-fosfato desidrogenase utilizando *Saccharomyces cerevisiae* W303. 2003. 181 f. **Dissertação (Mestrado EM Tecnologia de fermentações)**. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

OKUYAMA, M.; TANIMOTO, Y.; ITO, T.; ANZAI, A.; MORI, H.; KIMURA, A.; MATSUI, H.; CHIBA, S. Purification and characterization of the hyper-glycosylated extracellular α -

glucosidase from *Schizosaccharomyces pombe*. **Enzyme and Microbial Technology**. v. 37, n. 5, p. 472–480, 2005. doi: 10.1016/j.enzmictec.2004.06.018

OSBON, T.; KUMAR, M. Biocatalysis and Strategies for Enzyme Improvement. **Biophysical Chemistry – advance applications** 2019.

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

PANDEY, A.; WEBB, C.; SOCCOL, C. R.; LARROCHE, C. Enzyme Technology. **New Delhi: Springer.**, 742 p. 2006. <https://link.springer.com/book/10.1007/978-0-387-35141-4>

SANTOS, F.R.S.; GARCIA, N.F.L.; PAZ, M. F.; FONSECA, G.G.; LEITE, R. S. R. Production and characterization of β -glucosidase from *Gongronella butleri* by solid-state fermentation. **African Journal of Biotechnology**, v.15, n. 16, p.633-641, 2016.

SILVA, T. M., MALLER, A., PEIXOTO-NOGUEIRA, S. C., MICHELIN, M., JORGE, J.A., Polizeli, M. L. T. M. Evidence of high production levels of thermostable dextrinizing and saccharogenic amylases by *Aspergillus niveus*. **Afr. J. Biotechnol.** v. 12, n. 15, p. 1874–1881, 2013. <https://doi.org/10.5897/AJB12.2830>.

Silva, G. C. D. Purificação, caracterização e aplicação de uma exopoligalacturonase de *Aspergillus terreus* PA3A5T na clarificação de sucos de frutas. 2021.

SINGH, S. A.; PLATTNER, H.; DIEKMAN, H. Exopolygalacturonate lyase from a thermophilic *Bacillus sp.* **Enzyme and Microbial Technology**, v.25, p.420, 1999.

SINGH, R.; KUMAR, M.; MITTAL, A.; MEHTA, P. K. Microbial enzymes: industrial progress in 21st century. **3 Biotech Journal**, v. 6, p. 1-15, 2016.

THOMAS, L.; LARROCHE, C.; PANDEY, A. Current developments in solid-state fermentation. **Biochemical Engineering Journal**, v. 81, p. 146-161, 2013.

VIDEIRA, T. C. Produção de pectinases por cultivo em estado sólido do fungo *Pycnoporus sanguineus* em resíduos agroindustriais. 2021.

VORAGEN, A. G. J.; PILNIK, W.; THIBAUT, J. F. Pectins, Food polysaccharides and their applications, cap. 10, Stephen A. M. (ed.), **Marcel Dekker Inc.**, New York 1995.