

Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD
Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais – FCBA
Graduação em Biotecnologia Bacharelado

Produção de enzimas fibrolíticas por cultivo em estado sólido de *Pycnoporus sanguineus*

Guilherme Lopes Miranda

Ianca Soares de Sene

Dourados - MS

2024

Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD
Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais – FCBA

Guilherme Lopes Miranda

Ianca Soares de Sene

Produção de enzimas fibrolíticas por cultivo em estado sólido de *Pycnoporus sanguineus*

Trabalho de Conclusão de Curso apresentada à Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de Graduado em Biotecnologia Bacharelado.

Orientador(a): Prof. Dr. Rodrigo Simões Ribeiro Leite

Dourados - MS

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

S475p Sene, Ianca Soares De
Produção de enzimas fibrolíticas por cultivo em estado sólido de *Pycnoporus sanguineus*
[recurso eletrônico] / Ianca Soares De Sene, Guilherme Lopes Miranda. -- 2024.
Arquivo em formato pdf.

Orientador: Rodrigo Simões Ribeiro Leite.
TCC (Graduação em Biotecnologia)-Universidade Federal da Grande Dourados, 2024.
Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:
<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

1. cultivo em estado sólido. 2. enzimas fibrolíticas. 3. substrato. I. Lopes Miranda, Guilherme.
II. Leite, Rodrigo Simões Ribeiro. III. 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.

**Guilherme Lopes Miranda
Ianca Soares de Sene**

Produção de enzimas fibrolíticas por cultivo em estado sólido de *Pycnoporus sanguineus*

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.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Simões Ribeiro Leite

Aprovado em: 20 de Setembro de 2024

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 **RODRIGO SIMOES RIBEIRO LEITE**
Data: 28/11/2024 10:47:02-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Rodrigo Simões Ribeiro Leite
Presidente

Documento assinado digitalmente
 **MARCELO FOSSA DA PAZ**
Data: 28/11/2024 13:38:43-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Marcelo Fossa da Paz
Membro

Documento assinado digitalmente
 **LUIZ HENRIQUE BOVI DE QUADROS**
Data: 28/11/2024 18:27:10-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Luiz Henrique Quadros
Membro

AGRADECIMENTOS

Gostaríamos de expressar nossa profunda gratidão a todos que contribuíram para a realização deste trabalho.

Agradecemos primeiramente ao nosso orientador Prof. Dr. Rodrigo Simões Ribeiro Leite, pela orientação, paciência e suporte ao longo deste processo. Suas sugestões e críticas construtivas foram fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos nossos familiares, que nos apoiaram incondicionalmente e nos encorajaram a perseverar em momentos difíceis. Agradecemos especialmente aos nossos pais, que sempre acreditaram em nosso potencial e nos motivaram a seguir em frente.

Aos nossos amigos e colegas de curso, que compartilharam conosco esta jornada acadêmica. Suas palavras de incentivo e companhia fizeram toda a diferença em nossa trajetória.

Agradecemos também ao Laboratório de Enzimologia e Processos Fermentativos por nos proporcionar os recursos necessários para a realização das pesquisas e a todos os profissionais que colaboraram direta ou indiretamente para a conclusão deste trabalho.

A UFGD pelo ambiente propício à evolução e crescimento, bem como a todas as pessoas que a tornam assim tão especial para quem a conhece.

Por fim, agradecemos um ao outro, pela parceria, dedicação e trabalho em equipe. Este Trabalho de Conclusão de Curso é resultado de nosso esforço conjunto, e somos gratos pela oportunidade de termos compartilhado essa experiência.

RESUMO

No Brasil, a alta produção agrícola gera grandes quantidades de resíduos que podem ser utilizados para o cultivo em estado sólido visando a produção de enzimas fibrolíticas. O objetivo deste trabalho foi avaliar a produção de enzimas fibrolíticas pelo fungo *Pycnoporus sanguineus* usando resíduos agroindustriais como substrato. O fungo *P. sanguineus* foi cultivado em estado sólido em uma mistura de farelo de trigo e bagaço de cana, sendo as enzimas extraídas e quantificadas a cada 24 horas de cultivo. A maior produção das enzimas foi observada em 48 e 72 horas para pectinase ($1105,9 \text{ U.g}^{-1}$) e β -glicosidase ($8,30 \text{ U.g}^{-1}$), e para endoglucanase ($90,13 \text{ U.g}^{-1}$) e xilanase ($14,3 \text{ U.g}^{-1}$), 48 horas de cultivo. O fungo *P. sanguineus* mostrou-se eficaz na produção rápida de enzimas fibrolíticas, especialmente pectinolíticas, utilizando farelo de trigo e bagaço de cana como substratos.

Palavras-chave: cultivo em estado sólido, enzimas fibrolíticas, substratos.

ABSTRACT

In Brazil, the high level of agricultural production generates a considerable amount of waste that can be utilized for solid-state cultivation to produce fibrolytic enzymes. The objective of this study was to assess the production of fibrolytic enzymes by the fungus *Pycnoporus sanguineus* utilizing agro-industrial waste as a substrate. The fungus *P. sanguineus* was cultivated in a solid state in a mixture of wheat bran and sugarcane bagasse, with the enzymes extracted and quantified at 24-hour intervals throughout the cultivation period. The highest enzyme production was observed at 48 and 72 hours for pectinase (1105.9 U.g⁻¹) and β -glucosidase (8.30 U.g⁻¹), and for endoglucanase (90.13 U.g⁻¹) and xylanase (14.3 U.g⁻¹) at 48 hours of cultivation. The fungus *P. sanguineus* was found to be an effective producer of fibrolytic enzymes, particularly pectinolytic enzymes, when cultivated in a solid-state using wheat bran and sugarcane bagasse as substrates.

Keywords: solid state cultivation, fibrolytic enzymes, substrates.

1. INTRODUÇÃO

No Brasil, a alta produção agrícola gera grandes quantidades de resíduos, incluindo palha e bagaço de cana-de-açúcar, farelo de trigo, resíduos de milho, farelo de arroz e até mesmo resíduos de frutas como bagaço de laranja e maracujá. Além de abundantes e baratos, esses subprodutos apresentam em sua composição material lignocelulósico, que podem ser utilizados como substratos para produção de enzimas por cultivo em estado sólido de fungos filamentosos (OGEDA et al., 2010).

Fungos filamentosos, como espécies dos gêneros *Aspergillus* e *Trichoderma*, destacam-se pela capacidade de secretar um amplo espectro de enzimas hidrolíticas, especialmente celulasas, hemicelulasas e pectinases, quando cultivados em substratos lignocelulósicos. O cultivo em estado sólido (CES) é uma técnica que simula as condições naturais de crescimento desses fungos, utilizando substratos sólidos como fonte de carbono e suporte físico, sem a presença de água livre. Esse sistema é altamente eficiente, promovendo alta produtividade enzimática e contribuindo para a valorização de resíduos agroindustriais (PANDEY et al., 2000).

A parede celular vegetal é formada por uma estrutura rígida e complexa, que fornece suporte estrutural e proteção contra fatores externos à célula vegetal. Exercendo um papel fundamental na troca de nutrientes e água com o ambiente, sua composição e arquitetura atuam no crescimento e desenvolvimento das plantas, bem como na defesa e preservação da integridade celular e adaptação a diferentes condições ambientais (SOMERVILLE, 2006). Essa estrutura é constituída sobretudo por celulose, hemicelulose, lignina e pectina, além de proteínas e outras substâncias, a parede celular vegetal concede a expansão celular à medida em que novos materiais são aderidos, em decorrência da modificação da celulose nas regiões de crescimento.

A variação desses componentes ocorre de acordo com o tipo de célula e a sua função. A composição da parede celular também pode variar com o crescimento vegetal, permitindo que cada estrutura tenha o seu desenvolvimento adequado (CARPITA, 2011; COSGROVE, 2005).

A celulose é o componente mais abundante e forma fibras resistentes que conferem rigidez à parede celular. Esse polissacarídeo é formado por unidades de glicose conectadas através de ligações glicosídicas β -1,4, constituídas por cadeias que se organizam em fibrilas que, quando agregadas, formam microfibrilas. A resistência e

rigidez características da celulose é resultado da organização e empacotamento dessas microfibrilas (BROWN JR, 2004; NISHIYAMA et al., 2002).

A hemicelulose, contrária à celulose, apresenta uma variada composição de açúcares como glicose, xilose, manose e outros monossacarídeos, compondo um grupo de polissacarídeos amorfos e complexos. Essa constituição concede maior flexibilidade e solubilidade em água, em comparação com a celulose (SCHELLER; ULVSKOV, 2010). As hemiceluloses cooperam ativamente na regulação do crescimento celular, na resposta ao estresse ambiental e na interação planta-patógeno, pois sua maleabilidade e composição permite que a planta se adapte a diferentes condições ambientais (PAULY; KEEGSTRA, 2008).

A pectina é um complexo polissacarídeo presente na parede celular vegetal constituída por cadeias de ácido poligalacturônico, dispondo de açúcares como arabinose e ramnose, fundamental na formação da estrutura e consistência dos vegetais (VORAGEM et al., 2009; WILLATS et al., 2006). A pectina desempenha papel crucial na estrutura e resistência da parede celular das plantas, atribuindo rigidez e suporte às células vegetais.

A lignina é um polímero complexo de compostos fenólicos conectados por ligações éter e carbono-carbono, o que a torna insolúvel em água e resistente à degradação microbiana. Responsável também pela interação planta-microrganismo, este polímero faz a regulação do transporte de água e proteção contra patógenos (BOERJAN et al., 2003; HIGUCHI, 1990; VANHOLME et al., 2010).

As atividades agroindustriais geram uma variedade de resíduos como cascas, sementes e bagaços. A administração efetiva destes resíduos favorece práticas sustentáveis e ameniza futuros impactos ambientais, onde estratégias integradas potencializam seu aproveitamento, enfatizando sua capacidade como fonte de biomassa e energia para diversas indústrias. Na agricultura, o aproveitamento destes materiais como adubo orgânico para a melhoria da fertilidade do solo, tem o potencial de reduzir a dependência de fertilizantes químicos. Ainda, o controle da decomposição destes resíduos colabora para a diminuição de emissões de gases de efeito estufa, dando oportunidade para práticas agrícolas mais sustentáveis (CORDEIRO et al., 2020; SPADOTTO et al., 2006).

2. OBJETIVO

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a produção de enzimas fibrolíticas por cultivo em estado sólido do fungo *Pycnoporus sanguineus* utilizando farelo de trigo e bagaço de cana de açúcar como substrato.

3. METODOLOGIA

3.1. Produção enzimática

3.1.1. Microrganismo

No presente trabalho foi utilizado o fungo *Pycnoporus sanguineus*, mantido no Laboratório de Enzimologia e Processos Fermentativos (LEPFER) da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD). O fungo em questão foi isolado de árvores localizadas no Cerrado na região próxima da cidade de Dourados - MS e identificado pela Micoteca URM da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE.

3.1.2. Produção de inóculo

O fungo foi cultivado em frascos de Erlenmeyer de 250 mL, contendo 50 mL do meio *Ágar Sabouraud Dextose*, onde o mesmo foi mantido pelo período de 96 horas a 28 °C. A suspensão do fungo foi realizada pela raspagem suave da superfície do meio de cultura com 30 mL de solução nutriente composta de 0,1% de sulfato de amônio, 0,1% nitrato de amônia, 0,1% sulfato de magnésio hepta-hidratado. A inoculação do fungo nos resíduos agroindustriais foi realizada pela transferência de 5 mL da suspensão microbiana.

3.1.3. Cultivo em estado sólido para produção de celulasas, hemicelulasas e pectinases

O substrato utilizado para o cultivo do fungo foi composto por 50% de farelo de trigo e 50% de bagaço de cana (5 g no total). Os substratos foram lavados com água destilada e posteriormente foram secos a 50 °C por 48 horas. Os cultivos foram realizados em frascos Erlenmeyer de 250 mL, contendo 5 g de substrato e umedecidos com 4,5 mL de solução nutriente (descritos anteriormente), em seguida foram levados para esterilização em autoclave (20 min, 120 °C, 1 atm). Posteriormente, foram adicionados 5 mL da solução inóculo, contendo 5mg de massa micelial seca/grama de substrato seco. Os frascos foram acondicionados a 28 °C e as amostras foram retiradas a cada 24 horas, completando 144 horas de cultivo. Os ensaios foram realizados em triplicatas e os valores descritos, representam as respectivas médias (COSTA *et al.*, 2019).

3.1.4. Extração das enzimas

Para a extração das enzimas foi adicionado 50 mL de água destilada aos frascos Erlenmeyer contendo o resíduo miceliado, após o processo, houve a maceração do substrato com a ajuda de um bastão de vidro por 10 min. Seguidamente, os frascos

foram agitados por 1 hora a 150 rpm. As amostras foram filtradas em tecido sintético em uma tecelagem (nylon) e centrifugadas a 1500 x g por 10 min a 10 °C . O sobrenadante foi considerado extrato enzimático e utilizado nos ensaios subsequentes (COSTA *et al.*, 2019).

3.1.5. Determinação da atividade enzimática

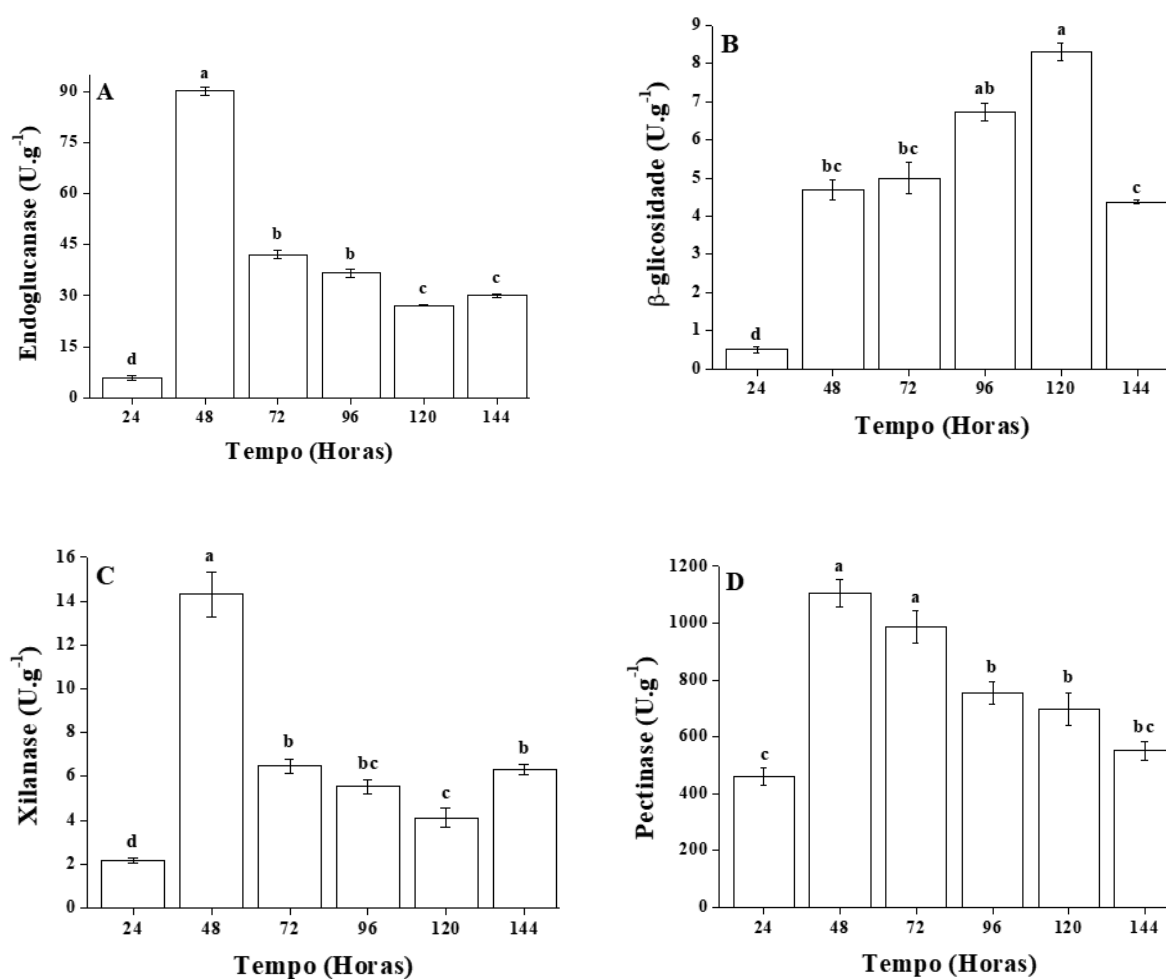
Para a quantificação de endoglucanase, pectinase e xilanase foi utilizado como substrato 3% de carboximetilcelulose (CMC - C5678; Sigma-Aldrich), 1% de pectina (Vtec) 1% de xilana (Beechwood, Sigma-Aldrich), respectivamente. Para quantificar os açúcares redutores, liberados pela ação enzimática, foi utilizado o método ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) (MILLER, 1959). A atividade de β -glicosidase foi medida com o substrato sintético p-NP- β -D-glucopiranosídeo 4 mM (Sigma-Aldrich). A unidade de atividade enzimática foi definida como a quantidade de enzima necessária para liberar 1 μ mol de produto por minuto de reação.

4. RESULTADOS e DISCUSSÃO

4.1. Produção de enzimas fibrolíticas

As maiores produções de endoglucanases e xilanases foram obtidas com 48 horas de cultivo, cerca de 90,13 e 14,3 U.g⁻¹ de substrato seco, respectivamente (Figura 1A e 1C). Para β -glucosidase a maior produção foi obtida com 120 horas, 8,30 U.g⁻¹ de substrato seco, e para pectinase entre 48 e 72 horas, atingindo 1105,9 U.g⁻¹ de substrato seco (Figura 1B e 1D).

Figura 1 - Produção de Endoglucanase (A), β -glucosidase (B), Produção de Xilanase (C), Pectinase (D), pelo fungo *Pycnoporus sanguineus* em função do tempo de cultivo em farelo de trigo e bagaço de cana (50%:50%) a 28 °C, contendo 65% de umidade (as barras de erro representam o desvio padrão médio da determinação em triplicata).



*Os valores seguidos pelas mesmas letras não diferem entre si, teste de Tukey (p<0,05).

A alta produção de pectinase em reduzido período de tempo são ótimas características, tendo em vista uma redução nos custos deste biocatalisador. Em comparação com artigos que produziram essas enzimas em condições ótimas como em Abdullah *et al.* (2018) com o fungo *A.niger* em CES, obtiveram a maior produção de pectinase, 390 U.g⁻¹, em 72 horas de cultivo. Rocha *et al.* (2020), relatam a produção de 38,2 U.g⁻¹ em 72 horas de CES do fungo *Aspergillus niger* em polpa de cajá.

Portanto, as características observadas na produção de pectinase por *P. sanguineus* no presente trabalho, podem contribuir para a redução de custo dessa enzima, o que favorece a sua aplicação em processos industriais, como na estação e clarificação de sucos e bebidas. A redução do tempo de produção enzimática é uma das características que auxiliam a diminuir os custos operacionais neste processo (FENG *et al.*, 2021; GAUNA *et al.*, 2018).

Estudos anteriores discorrem que a produção de pectinase em CES, grande parte das vezes utilizam resíduos vindos das frutas, essas que por sua vez, são ricas em uma grande concentração de pectina (LIN *et al.*, 2022; SANTOS *et al.*, 2018). Entretanto, estudos retratam que o farelo de trigo é um substrato excelente para a produção de enzimas fibrolíticas (GARCIA *et al.*, 2015; GARBIN *et al.*, 2021). Sendo um substrato nutricionalmente rico, o farelo de trigo contém aproximadamente 27% de carboidratos, 14% de proteínas, 6% de gordura e vitamina B e 5% de minerais, que facilitam que o microrganismo cresça e produza mais enzimas (PANDEY *et al.*, 2000).

Quanto à produção de endoglucanase, β -glicosidase e xilanase não foi elevada nas condições de cultivo utilizadas no presente trabalho, principalmente quando comparado com a literatura.

Garbin *et al.* (2021) relataram elevada produção de β -glicosidase (415,1 U.g⁻¹) por *Thermoascus crustaceus* quando cultivado em farelo de trigo. Massarente *et al.* (2020) obtiveram uma produção máxima 22,2 U.g⁻¹ de endoglucanase com 72 horas para o fungo termófilo *Myceliophthora thermophila* M.7.7 por CES em bagaço de cana e farelo de trigo. Costa *et al.*, (2019) constatarem uma produção de 36,4 U.g⁻¹ para endoglucanase e 617,8 U.g⁻¹ para xilanase por *Trichoderma piluliferum* e 301,8 U.g⁻¹ para endoglucanase e 53,0 U.g⁻¹ de xilanase por *Trichoderma viride*, quando utilizaram farelo de trigo como substrato. Garcia *et al.* (2015) descreveram um pico de produção de β -glicosidase 274 U.g⁻¹ pelo fungo *Lichtheimia ramosa* em farelo de trigo.

O fungo *P. sanguineus* mesmo com a reduzida produção de xilanases e celulases, apresentou excelente crescimento, resultando na miceliação de todo substrato

(farelo de trigo e bagaço de cana, figura 2) o que possibilita o emprego desse microrganismo em processos de biotransformação. Scarpa *et al.* (2019) utilizaram o extrato enzimático produzido pelo *P. sanguineus* na hidrólise de resíduos agroindustriais, visando a produção de etanol de segunda geração, o que confirma o potencial biotecnológico do microrganismo para degradar biomassa vegetal.

Figura 2 – Substrato de crescimento (farelo de trigo e bagaço de cana) miceliado por *Pycnoporus sanguineus* a temperatura de 28 °C, umidade de 65% ao 30º dia de cultivo.



Fonte: Asser Botelho

5. CONCLUSÃO

Conforme os resultados obtidos no presente trabalho, pode-se concluir que o fungo basidiomiceto *P. sanguineus*, quando cultivado em farelo de trigo e bagaço de cana produz enzimas fibrolíticas com reduzido tempo de cultivo, com destaque para enzimas pectinolíticas. A produção de pectinase foi particularmente rápida, sugerindo um potencial para redução de custos em processos industriais, como a clarificação de sucos e bebidas. No entanto, as produções de endoglucanase, β -glicosidase e xilanase não foram elevadas nas condições de cultivo utilizadas. Assim, otimizações como alterações na umidade, temperatura ou composição do substrato poderiam ser investigadas para maximizar a produção dessas enzimas e ampliar sua aplicabilidade industrial.

REFERÊNCIAS

- ABDULLAH, R.; FAROOQ, I.; KALEEM, A.; IQTEDAR, M.; & IFTIKHAR, T. Pectinase production from *Aspergillus niger* IBT-7 using solid state fermentation. **Bangladesh Journal of Botany**, v. 47, n. 3, p. 473-478, 2018. DOI: 10.3329/bjb.v47i3.38714.
- BOERJAN, WOUT; RALPH, JOHN; BAUCHER, Marie. Lignin biosynthesis. **Annual review of plant biology**, v. 54, n. 1, p. 519-546, 2003. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.54.031902.134938>.
- CARPITA, NICHOLAS C. Update on mechanisms of plant cell wall biosynthesis: how plants make cellulose and other (1→ 4)-β-D-glycans. **Plant physiology**, v. 155, n. 1, p. 171-184, 2011. <https://doi.org/10.1104/pp.110.163360>.
- CORDEIRO, NOÉLLE KHRISTINNE et al. Gestão de resíduos agrícolas como forma de redução dos impactos ambientais. **Revista de Ciências Ambientais**, v. 14, n. 2, p. 23-34, 2020. <https://doi.org/10.18316/rca.v14i2.5593>.
- COSGROVE, DANIEL J. GROWTH of the plant cell wall. **Nature reviews molecular cell biology**, v. 6, n. 11, p. 850-861, 2005. <https://doi.org/10.1038/nrml1746>.
- COSTA, A.C.; CAVALHEIRO, G.F.; QUEIROZ, E.R.V.; GANDRA, J.R.; BUSCHINELLI, R.H.D.T. PAZ, M.F.; LEITE, R.S.R. Catalytic properties of xylanases produced by *Trichoderma piluliferum* and *Trichoderma viride* and their application as additives in bovine feeding. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 19, 101161, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101161>.
- FENG, M.; ZHOU, J.; YU, X.; WANG, H.; GOU, Y.; & MAO, W. Bioremediation of triphenyl phosphate by *Pycnoporus sanguineus*: Metabolic pathway, proteomic mechanism and biotoxicity assessment. **Journal of Hazardous Materials**. v. 417, 125983, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125983>.
- GARBIN, A.P.; GARCIA, N.F.L.; CAVALHEIRO, G.F.; SILVESTRE, M.A.; RODRIGUES, A.; PAZ, M.F.; FONSECA, G.G.; LEITE, RODRIGO S.R. β-glucosidase from thermophilic fungus *thermoascus crustaceus*: production and industrial potential. **Anais da academia brasileira de ciências**, 2021. <https://doi.org/10.1590/0001-3765202120191349>.
- GARCIA, N.F.L.; SANTOS, F.R.S.; GONÇALVES, F.A.; PAZ, M.F.; FONSECA, G.G.; LEITE, R.S.R. Production of β-glucosidase on solid-state fermentation by *Lichtheimia ramosa* in agroindustrial residues: Characterization and catalytic properties of the enzymatic extract. **Electronic Journal of Biotechnology**, v.18, p. 314-319, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2015.05.007>.
- GAUNA, A.; LARRAN, A.S.; PEROTTI, V.E.; FELDMAN, S.R.; & PERMINGEAT, H.R. Fungal pretreatments improve the efficiency of saccharification of *Panicum prionitis* Ness biomass. **Biofuels**. v. 12, p. 415-421, 2018. <https://doi.org/10.1080/17597269.2018.1479934>.
- HIGUCHI, T. Lignin biochemistry: biosynthesis and biodegradation. **Wood Science and Technology**, v. 24, p. 23-63, 1990. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00225306>.
- LIN, D.; MA, Y.; QUI, W.; LOY, A.D.; CHEN, H.; & ZHANG, Q. The structure, properties and potential probiotic properties of starch-pectin blend: A review. **Food Hydrocolloids**, v. 129, 107644, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.107644>.
- MASSARENTE, V.S.; ZANONI, J.A.; GOMES, E.; BONILLA-RODRIGUEZ, G.O. Biochemical characterization of endoglucanases produced by *Myceliophthora thermophila* M.7.7 in solid-state culture. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 27, 101684, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101684>.
- MILLER, G.L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical chemistry**, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959.
- OGEDA, T. L., PETRI, D. F. S. Hidrólise Enzimática de Biomassa. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n. 7, p.1549-1558, 2010. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422010000700023>.
- P., MINARDI, S. and S. (2015) Optimization of Nitrogen Fertilization Input on *Zea mays* L. Cultivation through the Biological Inhibition of Nitrification. **Agricultural Sciences**, 6, 201-207. <https://doi.org/10.4236/as.2015.62019>.
- PANDEY, A.; SOCCOL, C.R.; MITCHELL, D. New developments in solid state fermentation: I-bioprocesses and products. **Process Biochemistry**, v. 35, n. 10, p. 1153-1169, 2000. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(00\)00152-7](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(00)00152-7).
- PAULY, Markus; KEEGSTRA, Kenneth. Cell-wall carbohydrates and their modification as a resource for biofuels. **The Plant Journal**, v. 54, n. 4, p. 559-568, 2008. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2008.03463.x>.
- ROCHA, J.C.; ARAÚJO, J.S.; PAIVA, W.K.V.; RIBEIRO, E.S.S.; PADILHA, C.E.A.; ASSIS, C.F.; SANTOS, E.S.; MACÊDO, G.R.; & JÚNIOR, F.C.S. Yellow mombin pulp residue valorization for pectinases production by *Aspergillus niger* IOC 4003 and its application in juice clarification.

Biocatalysis and Agricultural Biotechnology. v. 30, 101876, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101876>.

SANTOS, P.S.; SOLIDADE, L.S.; SOUZA, J.G.B.; LIMA, G.S.; BRAGA Jr, A.C.R.; ASSIS, F.G.V.; & LEAL, P.L. Fermentação em estado sólido em resíduos agroindustriais para a produção de enzimas: uma revisão sistemática. **The journal of Engineering and Exact Sciences.** v. 04, n. 02, 2018. <https://doi.org/10.18540/jcecvl4iss2pp0181-0188>.

SCARPA, J.C.P.; MARQUES, N.P.; MONTEIRO, D.A.; MARTINS, G.M. PAULA, A.V.; BOSCOLO, M.; SILVA, R.; GOMES, E.; BOCCHINI, D.A. Saccharification of pretreated sugarcane bagasse using enzymes solution from *Pycnoporus sanguineus* MCA 16 and cellulosic ethanol production. **Industrial Crops and Products**, v.141, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111795>.

SCHELLER, Henrik Vibe; ULVSKOV, Peter. Hemicelluloses. **Annual review of plant biology**, v. 61, p. 263-289, 2010. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042809-112315>.

SOMERVILLE, Chris. Cellulose synthesis in higher plants. **Annu. Rev. Cell Dev. Biol.**, v. 22, p. 53-78, 2006. <https://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.22.022206.160206>.

VANHOLME, Ruben et al. Lignin biosynthesis and structure. **Plant physiology**, v. 153, n. 3, p. 895-905, 2010. <https://doi.org/10.1104/pp.110.155119>.

VORAGEN, Alphons GJ et al. Pectin, a versatile polysaccharide present in plant cell walls. **Structural Chemistry**, v. 20, p. 263-275, 2009. <https://doi.org/10.1007/s11224-009-9442-z>.

SPADOTTO, Claudio A. et al. **Gestão de resíduos na agricultura e agroindústria**. Botucatu: FEPAF, 2006., 2006.

TAIZ, L. and ZEIGER, E. (2002) **Plant Physiology (Third Edition)**. Sinauer Associates, Inc., Publishers, Sunderland, 67-86.

WILLATS, William GT; KNOX, J. Paul; MIKKELSEN, Jørn Dalgaard. Pectin: new insights into an old polymer are starting to gel. **Trends in Food Science & Technology**, v. 17, n. 3, p. 97-104, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2005.10.008>.

WONG, A. L. et al. Synthesis of bioplastics from food industry wastes with activated sludge biomass. **Water science and technology**, v. 41, n. 12, p. 55-59, 2000. <https://doi.org/10.2166/wst.2000.0239>.