

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 30/12/2016.



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
(MICROBIOLOGIA APLICADA)

**Processo integrado de produção de enzimas fibrolíticas, açúcares
fermentescíveis e cogumelos comestíveis utilizando resíduos
agroindustriais**

Douglas Fernandes da Silva

Orientador: Prof. Dr. Pedro de Oliva Neto

Tese apresentada ao Instituto de
Biociências do Campus de Rio
Claro, Universidade Estadual
Paulista, como parte dos requisitos
para obtenção do título de Doutor
em Ciências Biológicas
(Microbiologia Aplicada).

Junho – 2016
Rio Claro – SP

Processo integrado de produção de enzimas fibrolíticas, açúcares fermentescíveis e cogumelos comestíveis utilizando resíduos agroindustriais

Capítulo 1: *Produção de enzimas fibrolíticas fúngicas por Fermentação submersa utilizando diferentes resíduos lignocelulósicos in natura ou pré-tratados*

Capítulo 2: *Hidrólise enzimática de bagaço de cana-de-açúcar in natura ou pré-tratado para obtenção de açúcares fermentescíveis*

Capítulo 3: *Produção integrada do cogumelo *Pleurotus ostreatus*, enzimas fibrolíticas e composto proteico por Fermentação em Estado Sólido com diferentes resíduos lignocelulósicos*

Douglas Fernandes da Silva

Orientador: Prof. Dr. Pedro de Oliva Neto

Tese apresentada ao Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências Biológicas (Microbiologia Aplicada).

**Junho – 2016
Rio Claro – SP**

620.8 Silva, Douglas Fernandes da
S586p Processo integrado de produção de enzimas fibrolíticas,
açúcares fermentescíveis e cogumelos comestíveis utilizando
resíduos agroindustriais / Douglas Fernandes da Silva. - Rio
Claro, 2016
239 f. : il., figs., gráfs., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista,
Instituto de Biociências de Rio Claro
Orientador: Pedro de Oliva Neto

1. Biotecnologia. 2. Resíduos lignocelulósicos. 3. Enzimas
do complexo fibrolítico. 4. *Trichoderma reesei*. 5.
Sacarificação. 6. *Pleurotus ostreatus*. I. Título.

Ficha Catalográfica elaborada pela STATI - Biblioteca da UNESP
Campus de Rio Claro/SP

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA TESE DE DOUTORADO DE DOUGLAS FERNANDES DA SILVA, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (MICROBIOLOGIA APLICADA), DO INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS.

Aos 30 dias do mês de junho do ano de 2016, às 14:00 horas, no(a) Sala 15 - Bloco Didático I - IB, reuniu-se a Comissão Examinadora da Defesa Pública, composta pelos seguintes membros: Prof. Dr. PEDRO DE OLIVA NETO - Orientador(a) do(a) Departamento de Ciências Biológicas / Faculdade de Ciências e Letras de Assis - SP, Prof. Dr. MICHEL BRIENZO do(a) Laboratório de Caracterização de Biomassa / Instituto de Pesquisa Em Bioenergia-Ipben, Profa. Dra. ELEONORA CANO CARMONA do(a) Departamento de Bioquímica e Microbiologia / IB Rio Claro, Prof. Dr. JOÃO CLAUDIO THOMEIO do(a) Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos / UNESP-Câmpus de São José do Rio Preto, Profa. Dra. ELENÍ GOMES do(a) Departamento de Biologia / UNESP - Câmpus de São José do Rio Preto, SP, sob a presidência do primeiro, a fim de proceder a arguição pública da TESE DE DOUTORADO de DOUGLAS FERNANDES DA SILVA, intitulada **Processo integrado de produção de enzimas fibrolíticas, açúcares fermentescíveis e cogumelos comestíveis utilizando resíduos agroindustriais**. Após a exposição, o discente foi arguido oralmente pelos membros da Comissão Examinadora, tendo recebido o conceito final: APROVADO. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelos membros da Comissão Examinadora.

Prof. Dr. PEDRO DE OLIVA NETO



Prof. Dr. MICHEL BRIENZO



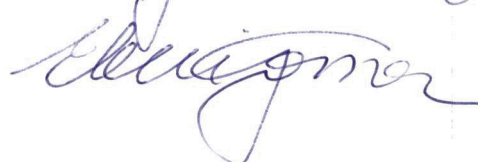
Profa. Dra. ELEONORA CANO CARMONA



Prof. Dr. JOÃO CLAUDIO THOMEIO



Profa. Dra. ELENÍ GOMES



Dedico este trabalho aos meus pais, José Dimas da Silva e Tania Maria Fernandes da Silva, e a toda a minha família pelo grande apoio e incentivo aos estudos que sempre me concederam. O amor que recebo de vocês é a fonte das minhas energias.

"Temos de fazer o melhor que podemos. Esta é a nossa sagrada responsabilidade humana"

(Albert Einstein)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por ter me acompanhado nesta jornada, me dado força e sabedoria na hora necessária.

Aos meus pais e irmã, por tudo o que já fizeram por mim, por estarem sempre ao meu lado e pela certeza de que sempre estarão. A minha companheira Isabella Leone e toda a sua família por estarem do meu lado.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Pedro de Oliva Neto, por sua paciência comigo durante todo esse tempo desde a graduação, por toda a experiência adquirida com ele e por todas as discussões construtivas que tivemos.

Aos meus amigos e companheiros de trabalho no laboratório, principalmente a Ludmila Hergesel, sem os quais esse trabalho não existiria.

A Dra. Ana Flávia Carvalho que me auxiliou em diversos pontos do meu trabalho, tanto teórico como prático.

Ao Departamento de Ciências Biológicas da Faculdade de Ciências e Letras de Assis, por ter me acolhido e fornecido todo o suporte necessário para a fase experimental da minha pesquisa científica.

A Capes – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, e a FAPESP – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, pelo suporte financeiro.

A todos que, de uma forma ou de outra participaram da elaboração desse trabalho e que porventura eu tenha me esquecido de citar, minhas desculpas e meus mais sinceros agradecimentos.

Sumário

Lista de Tabelas.....	13
Lista de Figuras.....	16
Resumo	xx
Abstract.....	21
1. Introdução	22
2. Revisão Bibliográfica	24
2.1. Resíduos agroindustriais lignocelulósicos	24
2.2. Biomassa lignocelulósica	26
2.3. Principais constituintes dos resíduos agroindustriais	28
2.4. Celulose	28
2.5. Hemicelulose	30
2.6. Lignina	32
2.7. Outros constituintes da biomassa lignocelulósica (orgânicos e inorgânicos).....	34
2.8. Cana-de-açúcar (<i>Saccharum officinarum</i> L)	34
2.9. Bagaço de laranja.....	36
2.10. Outras biomassas como fonte lignocelulolítica	36
2.11. Biomassa: Fonte de bioenergia (energias renováveis).....	37
2.12. Pré-tratamentos	40
2.13. Pré-tratamento alcalino	41
2.14. Hidrólise.....	42
2.15. Enzimas: Catalisadores biológicos.....	43
2.16. Enzimas celulolíticas	43
2.16.1. Sinergismo entre as enzimas do complexo celulítico	45
2.17. Enzimas xilanolíticas	46
2.18. Enzimas lignolíticas	46
2.18.1. Lacases	47
2.18.2. Manganês Peroxidase	47
2.19. Micro-organismos produtores de enzimas fibrolíticas	48
2.20. Fungos degradadores de biomassa lignocelulolítica.....	50
2.21. Fungos <i>Basidiomycota</i>	52
2.22. <i>Pleurotus ostreatus</i> (Shimeji)	55
2.23. Cultivo Axênico de cogumelos	56

2.23.1.	Influência da relação C/N no cultivo dos fungos basidiomicetos	60
2.24.	Açúcares fermentescíveis e Bioetanol de segunda geração	62
3.	Objetivo Geral	63
3.1.	Objetivos Específicos	63
4.	Fluxograma	64
Capítulo 1: <i>Produção de enzimas fibrolíticas fúngicas por Fermentação submersa utilizando diferentes resíduos lignocelulósicos in natura ou pré-tratados</i>		lxv
Resumo		lxvi
1.	Introdução	67
2.	Materiais e Métodos	68
2.1.	Materiais	68
2.1.1.	Micro-organismo	68
2.1.2.	Preservação dos micro-organismos	68
2.1.3.	Reagentes e Substratos	69
2.1.4.	Celulase comercial (E.C.3.2.1.4)	69
2.1.5.	Equipamentos	71
2.2.	Metodologia	71
2.2.1.	Ensaio para pré-seleção do melhor fungo fibrolítico e da melhor caldo nutriente	71
2.2.1.1.	Ensaio de comparação entre os diferentes fungos fibrolíticos	72
2.2.1.2.	Ensaio para definir a melhor concentração do caldo nutriente para o cultivo e produção do complexo enzimático	73
2.2.2.	Produção do extrato enzimático e substrato residual do <i>T. reesei</i> QM 9414	73
2.2.2.1.	Meio e Condições de Cultivo	73
2.2.2.2.	Pré-tratamento biológico	74
2.2.2.2.1.	Pré-tratamento biológico do Farelo de Trigo	74
2.2.2.2.2.	Pré-tratamento biológico do bagaço de cana-de-açúcar	75
2.2.2.2.3.	Preparação das biomassas residuais	75
2.2.2.3.	Pré-tratamento físico-químico	75
2.2.2.3.1.	Pré-tratamento ácido do bagaço de cana-de-açúcar	76
2.2.2.3.2.	Pré-tratamento físico do Capim Napier	76
2.2.2.4.	Cultivo do <i>T. reesei</i> QM 9414 em incubadora orbital (80 mL) – protocolos em pequena escala	77
2.2.2.5.	Planejamento Experimental (DCCR ²) na produção do complexo fibrolítico para duas variáveis independentes (pH e Temperatura)	77

2.2.2.6. Culturas em fermentador com agitação (2 Litros - Escala de laboratório em fermentador).....	78
2.2.2.7. Caracterização do complexo enzimático: influência da temperatura, pH e termoestabilidade.....	79
2.2.2.8. Concentração do extrato enzimático	80
2.2.2.8.1. Ensaio de estabilidade da temperatura	80
2.2.2.8.2. Concentração do extrato fibrolítico em fermentador em temperatura constante e a vácuo	80
2.2.3. Procedimentos analíticos	81
2.2.3.1. Determinação das Celulases Totais (Atividade de Papel de Filtro - FPase).....	81
2.2.3.2. Determinação da Endoglucanase (CMCase).....	82
2.2.3.3. Determinação da Exoglucanase (Avicelase).....	83
2.2.3.4. Determinação das Xilanases.....	83
2.2.3.5. Determinação do Açúcar Redutor	84
2.2.3.6. Determinação da atividade por grama de substrato	84
2.2.3.7. Determinação da atividade proteolítica.....	85
2.3. Tratamento Estatístico	85
3. Resultados e Discussão	86
3.1.1.1. Ensaio para pré-seleção do melhor fungo fibrolítico e da complementação nutricional dos meios de cultura.....	86
3.1.1.2. Ensaio de pré-seleção do fungo	86
3.1.1.3. Ensaio para determinar o melhor caldo nutriente	87
3.2. Influência da fonte de carbono na produção do complexo enzimático por <i>T. reesei</i> QM 9414 em “incubadora orbital”	91
3.2.1. Produção do complexo celulolíticos pelos diferentes substratos	93
3.2.1.1. Celulases Totais.....	93
3.2.1.2. Endoglucanase.....	95
3.2.1.3. Exoglucanase	98
3.2.1.4. Produção do complexo xilanolítico pelos diferentes substratos	100
3.3. Avaliação das melhores condições físico-químicas para a produção enzimática por Delineamento composto central rotacional (DCCR)	107
3.3.1. DCCR para o bagaço de laranja (<i>BLara+Sac</i>).....	107
3.3.2. DCCR para o cultivo a partir do substrato <i>T1+Sac</i>	114
3.4. Experimentos com Fermentador de 2 litros.....	122
3.4.1. <i>BLara+Sac</i> em fermentador agitado (2 litros).....	122

3.4.2.	T1+Sac em fermentador agitado (2 litros)	127
3.5.	Testes de estabilidade do complexo fibrolítico produzido	133
3.5.1.	Efeito da temperatura e pH de reação no complexo enzimático fibrolítico	133
3.5.2.	Estabilidade térmica do extrato fibrolítico	135
3.6.	Concentração do extrato enzimático	143
4.	Conclusão	144
Capítulo 2: Hidrólise enzimática de bagaço de cana-de-açúcar in natura ou pré-tratado para obtenção de açúcares fermentescíveis		cxlvi
Resumo		cxlviii
1.	Introdução	148
2.	MATERIAIS E MÉTODOS	149
2.1.	Materiais	149
2.1.1.	Celulase comercial (E.C.3.2.1.4)	149
2.1.2.	Resíduos agroindustriais utilizados	149
2.1.3.	Reagentes e Substratos	150
2.1.4.	Equipamentos	151
2.2.	Metodologia	151
2.2.1.	Preparo do bagaço de cana-de-açúcar	151
2.2.2.	Pré-tratamento com Hidróxido de Sódio	151
2.2.2.1.	Pré-tratamento por Planejamento Experimental (DCCR 2 ³) e produção do CPD	152
2.2.2.2.	Pré-tratamento do bagaço de cana em condições pré-definidas de temperatura e NaOH	153
2.2.3.	Ensaio de FSm em incubadora orbital (80 mL)	154
2.2.4.	Testes de sacarificação	154
2.2.5.	Procedimentos analíticos	156
2.2.5.1.	Ensaio de liberação de AR para bagaços pré-tratados	156
2.2.5.2.	Determinação das Celulases Totais (Atividade de Papel de Filtro - FPase)	156
2.2.5.3.	Determinação do Açúcar Redutor	156
2.2.5.4.	Determinação do Teor de Lignina pelo Método Klason	156
2.3.	Tratamento Estatístico	158
3.	Resultados e Discussão	159
3.1.	Pré-tratamento álcali avaliado por delineamento composto central rotacional (DCCR 2 ³)	159

3.1.1. Tratamento físico/químico sob o bagaço de cana-de-açúcar e liberação de AR por ação da celulase comercial (DCCR 2 ³).....	159
3.1.2. Cultivo de <i>T. reesei</i> QM 9414 a partir de meio formulado com bagaço submetidos a tratamento com NaOH (DCCR) para produção enzimática	163
3.2. Pré-tratamento alcalino do bagaço de cana a partir de condições previamente estabelecidas no DCCR	166
3.3. Cultivo de <i>T. reesei</i> QM 9414 para produção de enzimas fibrolíticas com meios formulados com bagaço de cana pré-tratado	172
3.4. Sacarificação e hidrólise enzimática	174
4. Conclusão	clxxx
Capítulo 3: <i>Produção integrada do cogumelo Pleurotus ostreatus, enzimas fibrolíticas e composto proteico por Fermentação em Estado Sólido com diferentes resíduos lignocelulósicos</i>	
	clxxxi
Resumo	clxxxii
1. Introdução	183
2. MATERIAIS E MÉTODOS	185
2.1. Materiais	185
2.1.1. Micro-organismos	185
2.1.2. Resíduos agroindustriais	185
2.1.3. Reagentes e Substratos	186
2.1.4. Equipamentos	187
2.2. Métodos	187
2.2.1. Preservação, cultivo e inóculo primário (matriz primária) do <i>Pleurotus ostreatus</i>	187
2.2.2. Inóculo secundário.....	187
2.2.3. Inóculo terciário	188
2.2.4. Preparo dos Substratos	189
2.2.5. Teste em placa	189
2.2.6. Cultivo Axênico de <i>Pleurotus ostreatus</i> para produção de enzimas fibrolíticas e cogumelos	191
2.2.7. Colheita e Avaliação dos cogumelos	193
2.2.8. Coleta das Amostras	194
2.2.9. Procedimentos analíticos	194
2.2.9.1. Determinação de Celulases Totais (FPase – FPU/g).....	194
2.2.9.2. Determinação da Atividade da Endoglucanase (CMCase – U/g)	194
2.2.9.3. Determinação das Xilanases (U/g).....	195

2.2.9.4.	Determinação do Açúcar Redutor	195
2.2.9.5.	Atividade das enzimas ligninolíticas	195
2.2.9.5.1.	Atividade da Lacase (Lac) (U/g)	195
2.2.9.5.2.	Atividade da Manganês Peroxidase (MnP) (U/g)	195
2.2.9.5.3.	Cálculo das atividades lignolíticas	196
2.2.9.6.	Determinação da proteína bruta nas amostras secas pela técnica Kjeldahl.....	196
2.3.	Tratamento Estatístico	197
3.	Resultado e Discussão	198
3.1.	Teste em placa	198
3.2.	Cultivo Axênico e coleta dos cogumelos	205
3.3.	Produção enzimática	215
4.	Conclusão	218
	Conclusão geral	219
	Referências Bibliográficas	220

Lista de Tabelas

Tabela 1: Composição química parcial de alguns materiais lignocelulósicos.....	27
Tabela 1.1. Diferentes substratos utilizados na produção de enzimas celulolíticas e xilanolíticas.....	72
Tabela 1.2. Diferentes substratos utilizados na produção de enzimas celulolíticas e xilanolíticas.....	74
Tabela 1.3: DCCR (2^2) para a produção dos complexos enzimáticos pelo <i>T. reesei</i> QM 9414.	79
Tabela 1.4: Comparação entre os diferentes fungos na produção de Celulases Totais (FPase – FPU/mL) e Endoglucanase (CMCase – U/mL).	86
Tabela 1.5: Atividade Enzimática para celulase total (FPase), endoglucanase (CMCase) e protease nas fermentações com o <i>T. reesei</i> QM 9414.....	88
Tabela 1.6: Diferentes fontes de carbono para a produção de Celulases Totais (FPase), Endoglucanase (CMCase), Exoglucanase (Avicelase) e Xilanase pelo <i>T. reesei</i> QM 9414 em cultivo submerso em “incubadora orbital”.....	92
Tabela 1.7: Produção e atividades do complexo fibrolítico e atividades previstas para <i>T. reesei</i> QM 9414 nos ensaios experimentais e respostas em 10 dias de cultivo com o substrato <i>BLara</i> + <i>Sac</i>	108
Tabela 1.8: Coeficientes de regressão para a resposta da atividade de Celulases Totais e para o substrato <i>BLara</i> + <i>Sac</i>	108
Tabela 1.9: Coeficientes de regressão para a resposta da atividade de Endoglucanase e para o substrato <i>BLara</i> + <i>Sac</i>	110
Tabela 1.10: Coeficientes de regressão para a resposta da atividade de Exoglucanase e para o substrato <i>BLara</i> + <i>Sac</i>	111
Tabela 1.11: Coeficientes de regressão para a resposta da atividade xilanase para o substrato <i>BLara</i> + <i>Sac</i>	113
Tabela 1.12: Valores previstos para o delineamento experimental (DCCR 2^2).....	114
Tabela 1.13: Produção e atividades do complexo fibrolítico e atividades previstas para <i>T. reesei</i> QM 9414 nos ensaios experimentais e respostas em 15 dias de cultivo com o substrato <i>T1</i> + <i>Sac</i>	115
Tabela 1.14: Coeficientes de regressão para a resposta da atividade de Celulases Totais e para o substrato <i>T1</i> + <i>Sac</i> em 7 dias de cultivo.	115
Tabela 1.15: Coeficientes de regressão para a resposta da atividade de Endoglucanase e para o substrato <i>T1</i> + <i>Sac</i> em 10 dias de cultivo.	117
Tabela 1.16: Coeficientes de regressão para a resposta da atividade de Exoglucanase e para o substrato <i>T1</i> + <i>Sac</i> em 10 dias de cultivo.....	118
Tabela 1.17: Coeficientes de regressão para a resposta da atividade de Exoglucanase e para o substrato <i>T1</i> + <i>Sac</i> em 10 dias de cultivo.....	119
Tabela 1.18: Valores previstos para o delineamento experimental (DCCR 2^2).....	120

Tabela 1.19: Produção enzimática com Bagaço de laranja (<i>BLara+Sac</i>) cultivado em fermentador de 2 litros em condições controladas e diferentes dias de cultivo.	123
Figura 1.18: Produção de enzimas fibrolíticas – Endoglucanase (U/mL) – para o bagaço de laranja suplementado com 1% (m.v ⁻¹) sacarose, cultivado com <i>T. reesei</i> QM 9414 em fermentador de 2 litros e incubadora orbital (80 mL), 15 dias, 28 °C e pH 4,5.	125
Tabela 1.20: Produção enzimática com Bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado biologicamente – <i>T1+Sac</i> (Capítulo 3) cultivado em fermentador de 2 litros em condições controladas e diferentes dias de fermentação.....	127
Tabela 1.21: Teste de temperatura para os complexos fibrolíticos produzidos em fermentador de 2 litros em condições controladas – 15 dias.	133
Tabela 1.22: Atividade enzimática em diferentes pHs para os complexos fibrolíticos produzidos em fermentador de 2 litros.	135
Tabela 1.23: Estabilidade térmica a 50 °C até 60 minutos dos complexos fibrolíticos produzidos em fermentador de 2 litros em condições controladas.	136
Tabela 1.24: Estabilidade térmica do extrato enzimático produzido a partir do substrato <i>T1+Sac</i> em fermentador de 2 Litros, para as diferentes atividades fibrolíticas.	139
Tabela 1.25: Extratos enzimáticos sem concentrar e concentrados.....	143
Tabela 2.1: Pré-tratamento com hidróxido de sódio e obtenção dos CPDs nos diferentes parâmetros estudados.....	153
Tabela 2.2: Diferentes condições de tratamento físico/químico sobre o bagaço de cana-de-açúcar.....	154
Tabela 2.3: Liberação de AR (mg) para os diferentes parâmetros do pré-tratamento alcalino no bagaço de cana-de-açúcar..	160
Tabela 2.4: Coeficientes de regressão para a liberação de açúcar redutor para os pré-tratamentos utilizando NaOH.....	161
Tabela 2.5: Valores preditos para o delineamento experimental (DCCR2 ³).....	163
Tabela 2.6: Produção e atividade do complexo fibrolítico nos diferentes parâmetros estudados no cultivo do <i>T. reesei</i> QM 9414.	164
Tabela 2.7: Coeficientes de regressão para a produção de enzimas fibrolíticas – quantificadas por Celulases Totais – pela FSm e <i>T. reesei</i> QM 9414.	164
Tabela 2.8: Valores preditos para o delineamento experimental (DCCR2 ³).....	166
Tabela 2.9: Liberação de AR de acordo com os diferentes tipos de pré-tratamento alcalino.....	167
Tabela 2.10: Avaliação da deslignificação e remoção de hemicelulose do bagaço tratado por diferentes hidrólises alcalina.....	168
Tabela 2.11: Produção do complexo fibrolítico pela atividade de Celulases Totais (FPU/mL) com substratos CPD e <i>in natura</i>	172
Tabela 2.12: Liberação de açúcares redutores obtidos pela hidrólise enzimática de diferentes substratos e complexos enzimáticos a 50 °C e pH 5,6.....	175

Tabela 2.13: Balanço geral da conversão de biomassa em AR por hidrólise enzimática.	178
Tabela 3.1: Diferentes tratamentos com diferentes concentrações dos resíduos agroindustriais ($\text{m} \cdot \text{m}^{-1}$).	190
Tabela 3.2: Crescimento micelial (cm) do <i>P. ostreatus</i> após 5, 10 e 15 dias de cultivo, em 50, 60 e 80% de umidade, e 20 25 e 30 °C.	199
Tabela 3.3: Cultivo de <i>P. ostreatus</i> – eficiência biológica e rendimento	213
Tabela 3.4: Balanço geral da conversão de biomassa em AR por hidrólise enzimática.	215
Tabela 3.5: Dados de atividades enzimáticas obtidas após a colheita dos cogumelos.	217

Lista de Figuras

Figura 1: Modelo da estrutura molecular dos constituintes do material lignocelulósico (BIDLACK et al., 1992).	27
Figura 2: Cadeia linear polimérica da celulose.	28
Figura 3: D-Glicose, monossacarídeo resultante após a ação das enzimas celulolíticas sobre a celulose.	29
Figura 4: Representação do anel piranose por ligação intramolecular hemiacetal: a) aldeído; b) grupo terminal redutor.	29
Figura 5: Monossacarídeos encontrados na hemicelulose (FENGEL & WEGNER, 1989).	31
Figura 6: Estrutura teórica da lignina (FENGEL & WEGENER, 1989).	33
Figura 7: Ligação α - e β -aril éter da macromolécula de lignina.	33
Figura 8: Precursores da biossíntese da lignina: (I) álcool p-cumarílico; (II) álcool coniferílico; (III) álcool sinapílico (FENGEL e WEGENER, 1989).	33
Figura 9: Composição média do bagaço de cana-de-açúcar.....	35
Figura 10: Oferta interna de Energia para o Brasil. (Fonte: BEN, 2015).	39
Figura 11: Cadeia linear polimérica da celulose até o monossacarídeo.	44
Figura 12: Mecanismo de degradação da celulose e o sinergismo do complexo enzimático.	45
Figura 13: Fungo <i>Pleurotus ostreatus</i> . Fonte: mushroom-collecting.com/mushroomoyster.html	56
Figura 14: Fluxograma do bioprocesso integrado visando à obtenção de enzimas do complexo fibrolítico, açúcares fermentescíveis, biomassa residual proteica e cogumelos comestíveis.	64
Figura 1.1: Fluxograma do bioprocesso para a obtenção das enzimas fibrolíticas.	70
Figura 1.2: Atividades de Celulases Totais (FPase – FPU/mL) para o 7 e 10 ^o de cultivo. Ver Tabela 1.1 com composição dos meios.	89
Figura 1.3: Atividades de Endoglucanase (CMCase – U/mL) para o 7 e 10 ^o de cultivo.	90
Figura 1.4: Diferentes enzimas produzidas (Celulases Totais, Endoglucanase e Proteases) para os meios estudados, em 10 dias de cultivo.	90
Figura 1.5: Diferentes fontes de carbono na produção de enzimas fibrolíticas quantificadas pela técnica de Celulases Totais (FPU/mL).	94
Figura 1.6: Diferentes fontes de carbono na produção de enzimas fibrolíticas quantificadas pela técnica de Endoglucanase (U/mL).	97
Figura 1.7: Diferentes fontes de carbono na produção de enzimas fibrolíticas quantificadas pela técnica de Exoglucanase (U/mL).....	99

Figura 1.8: Diferentes fontes de carbono na produção de enzimas fibrolíticas quantificadas pela técnica de Xilanases (U/mL).	101
Figura 1.9: Superfície de resposta para atividade de Celulases Totais (FPU/mL): (a) curvas de contorno; (b) em função da temperatura (°C) e pH.	110
Figura 1.10: Superfície de resposta para atividade de Endoglucanase (U/mL): (a) curvas de contorno; (b) em função da temperatura (°C) e pH.	111
Figura 1.11: Superfície de resposta para atividade de Exoglucanase (U/mL): (a) curvas de contorno; (b) em função da temperatura (°C) e pH.	113
Figura 1.12: Superfície de resposta para atividade de Xilanases (U/mL): (a) curvas de contorno; (b) em função da temperatura (°C) e pH.	114
Figura 1.13: Superfície de resposta para atividade de Celulases Totais (FPU/mL): (a) curvas de contorno; (b) em função da temperatura (°C) e pH.	116
Figura 1.14: Superfície de resposta para atividade de Endoglucanase (U/mL): (a) curvas de contorno; (b) em função da temperatura (°C) e pH.	118
Figura 1.15: Superfície de resposta para atividade de Exoglucanase (U/mL): (a) curvas de contorno; (b) em função da temperatura (°C) e pH.	119
Figura 1.16: Superfície de resposta para atividade de Xilanases (U/mL): (a) curvas de contorno; (b) em função da temperatura (°C) e pH.	120
Figura 1.17: Produção de enzimas fibrolíticas – Celulases Totais (FPU/mL) – para o bagaço de laranja suplementado com 1% (m.v ⁻¹) sacarose, cultivado com <i>T. reesei</i> QM 9414 em fermentador de 2 litros e incubadora orbital (80 mL), 15 dias, 28 °C e pH 4,5.	125
Figura 1.18: Produção de enzimas fibrolíticas – Endoglucanase (U/mL) – para o bagaço de laranja suplementado com 1% (m.v ⁻¹) sacarose, cultivado com <i>T. reesei</i> QM 9414 em fermentador de 2 litros e incubadora orbital (80 mL), 15 dias, 28 °C e pH 4,5.	125
Figura 1.19: Produção de enzimas fibrolíticas – Exoglucanase (U/mL) – para o bagaço de laranja suplementado com 1% (m.v ⁻¹) sacarose, cultivado com <i>T. reesei</i> QM 9414 em fermentador de 2 litros e incubadora orbital (80 mL), 15 dias, 28 °C e pH 4,5	126
Figura 1.20: Produção de enzimas fibrolíticas – Xilanase (U/mL) – para o bagaço de laranja suplementado com 1% (m.v ⁻¹) sacarose, cultivado com <i>T. reesei</i> QM 9414 em fermentador de 2 litros e incubadora orbital (80 mL), 15 dias, 28 °C e pH 4,5	126
Figura 1.21: Produção de enzimas fibrolíticas – Celulases Totais (FPU/mL) – para o substrato <i>T1+Sac</i> , cultivado com <i>T. reesei</i> QM 9414 em fermentador de 2 litros e incubadora orbital (80 mL), 15 dias, 28 °C e pH 4,5	129
Figura 1.22: Produção de enzimas fibrolíticas – Endoglucanase (U/mL) – para o substrato <i>T1+Sac</i> , cultivado com <i>T. reesei</i> QM 9414 em fermentador de 2 litros e incubadora orbital (80 mL), 15 dias, 28 °C e pH 4,5	129
Figura 1.23: Produção de enzimas fibrolíticas – Exoglucanase (U/mL) – para o substrato <i>T1+Sac</i> , cultivado com <i>T. reesei</i> QM 9414 em fermentador de 2 litros e incubadora orbital (80 mL), 15 dias, 28 °C e pH 4,5	130

Figura 1.24: Produção de enzimas fibrolíticas – Xilanase (U/mL) – para o substrato <i>T1+Sac</i> , cultivado com <i>T. reesei</i> QM 9414 em fermentador de 2 litros e incubadora orbital (80 mL), 15 dias, 28 °C e pH 4,5.	130
Figura 1.25: Efeito da temperatura na atividade enzimática para o complexo fibrolítico produzido pelo <i>T. reesei</i> QM 9414 em fermentador de 2 L e substratos: <i>BLara+Sac</i> e <i>T1+Sac</i>	134
Figura 1.26: Atividade enzimática em função do pH de reação medido por Celulases Totais (FPU/mL) no complexo fibrolítico produzido pelo <i>T. reesei</i> QM 9414 em fermentador de 2 L e substratos: <i>BLara+Sac</i> e <i>T1+Sac</i>	135
Figura 1.27: Estabilidade enzimática a 50 °C e pH 5,6 medida pela técnica de Celulases Totais (FPU/mL) a partir do complexo enzimático fibrolítico produzido pelo <i>T. reesei</i> QM 9414 em fermentador de 2 L e substratos: <i>BLara+Sac</i> e <i>T1+Sac</i>	137
Figura 1.28: Estabilidade enzimática avaliado em diferentes tempos e temperaturas – Celulases Totais (FPU/mL). O complexo fibrolítico foi produzido pelo <i>T. reesei</i> QM 9414 em fermentador de 2 L, 15 dias de cultivo e substrato <i>T1+Sac</i>	140
Figura 1.29: Estabilidade enzimática avaliado em diferentes tempos e temperaturas – Endoglucanase (U/mL). O complexo fibrolítico foi produzido pelo <i>T. reesei</i> QM 9414 em fermentador de 2 L, 15 dias de cultivo e substrato <i>T1+Sac</i>	140
Figura 1.30: Estabilidade enzimática avaliado em diferentes tempos e temperaturas – Exoglucanase (U/mL). O complexo fibrolítico foi produzido pelo <i>T. reesei</i> QM 9414 em fermentador de 2 L, 15 dias de cultivo e substrato <i>T1+Sac</i>	141
Figura 1.31: Estabilidade enzimática avaliado em diferentes tempos e temperaturas – Xilanasas (U/mL). O complexo fibrolítico foi produzido pelo <i>T. reesei</i> QM 9414 em fermentador de 2 L, 15 dias de cultivo e substrato <i>T1+Sac</i>	141
Figura 2.2: Análise de superfície de resposta da hidrólise enzimática do bagaço pré-tratado por álcali: Liberação açúcares redutores (AR) em função: a) do tempo e NaOH; b) temperatura e NaOH; c) temperatura e tempo.	162
Figura 2.3: Análise do cultivo de <i>T. reesei</i> QM 9414 para produção enzimática usando-se bagaço pré-tratado por hidrólise alcalina, em função: a) tempo e NaOH; b) temperatura e NaOH; c) temperatura e tempo.	165
Figura 2.4: Liberação de AR por ação enzimática para cada amostra de CPD obtidas e o bagaço de cana <i>in natura</i>	168
Figura 2.5: Relação da hidrólise enzimática por liberação de açúcares redutores (AR) em 1 h de reação em função dos substratos pré-tratados com suas diferentes constituições químicas (celulose, hemicelulose e lignina) e bagaço de cana <i>in natura</i>	169
Figura 2.6: Produção de enzimas fibrolíticas pelos diferentes CPDs e bagaço de cana-de-açúcar <i>in natura</i>	173
Figura 2.7: Porcentagem de mg de AR liberado (até 72 h) para os diferentes tipos de complexos fibrolíticos avaliados e bagaço <i>in natura</i>	176
Figura 2.8: Porcentagem de mg de AR liberado (até 72 h) para os diferentes tipos de complexos fibrolíticos avaliados e bagaço pré-tratado.	177

Figura 3.1: Fungo <i>Pleurotus ostreatus</i> . Fonte: mushroomobserver.org	184
Figura 3.2: Fluxograma do processo biotecnológico.....	186
Figura 3.3: Inóculo terciário (matriz terciário) pronto, composta por grão de trigo, carbonato de cálcio e sulfato de cálcio.	189
Figura 3.4: Exemplo de uma placa dividida em quadrantes para a quantificação do crescimento micelial.....	191
Figura 3.5: Preparo do cultivo axênico: a) Bloco de biomassa para o crescimento do fungo <i>P. ostreatus</i> e o respirador feito por algodão e gases; b) Orifício formado pelo tubo cilíndrico, no qual foi utilizado posteriormente para a inoculação das sementes – matriz terciária (item 2.2.3).	192
Figura 3.6: Crescimento micelial do fungo <i>P. ostreatus</i> para o tratamento T1: a) 20 °C, 5 dias e umidade de 40% (v.m ⁻¹); b) 20 °C, 5 dias e umidade de 80% (v.m ⁻¹).	200
Figura 3.7: Crescimento micelial do fungo <i>P. ostreatus</i> para o tratamento T1, 5 dias de cultivo e 20 °C nas diferentes umidades.	200
Figura 3.8: Densidade micelial do <i>P. ostreatus</i> entre os 15 dias de cultivo para o tratamento T1 e 80%: a) 5 dias; b) 15 dias.....	201
Figura 3.9: Crescimento micelial (cm) em relação à temperatura, para os teores de umidade de 40 e 80% (v.m ⁻¹) de umidade e em 5 dias.....	201
Figura 3.10: Bagaço de cana <i>in natura</i> e pré-tratado (Capítulo 2) no crescimento micelial em teste em placas do <i>P. ostreatus</i> : a) Tratamentos sem suplementação de sacarose – T1 e T10; b) Tratamentos com suplementação de sacarose – T2 e T11; dados para os 15 dias de cultivo e 80% (v.m ⁻¹) de umidade.....	203
Figura 3.11: Cultivo axênico do T1 em 80% (v.m ⁻¹) de umidade inicial e 20 °C: a) Bloco de biomassa após a inoculação com 10% (m.m ⁻¹) com a matriz terciária – dia 1; b) Bloco de biomassa após a total colonização do micélio – 30 dias de cultivo e fim do cultivo axênico e início do processo de frutificação.....	207
Figura 3.12: Blocos com crescimento micelial após 15 dias de cultivo axênico.....	207
Figura 3.13: Blocos com crescimento micelial após 20 dias de cultivo axênico.....	208
Figura 3.14: Blocos com crescimento micelial após 30 dias de cultivo axênico.....	208
Figura 3.15: Processo de frutificação e formação dos cogumelos: a, b, c) Primeiro dia de frutificação; d, e, f) Segundo dia de frutificação; g, h, i) Terceiro dia de frutificação.	210
Figura 3.16: Processo de frutificação e formação dos cogumelos: a, b, c) Quarto dia de frutificação; d, e, f, g) Quinto dia de frutificação e momento de coleta dos cogumelos.	211
Figura 3.17: Cogumelos de <i>P. ostreatus</i> produzidos e coletados.	212

Resumo

Atualmente os resíduos lignocelulósicos, principalmente os agroindustriais estão sendo visados para a utilização em processos biotecnológicos. Os resíduos, se convenientemente hidrolisados, transformam-se em carboidratos que podem ser usados para diversos fins, tais como: produção de biomassa microbiana, açúcares fermentescíveis, bioenergia e compostos de alto valor agregado tais como enzimas. As enzimas do complexo fibrolítico estão entre as enzimas mais promissoras para a bioconversão e aproveitamento destes resíduos. O objetivo do presente trabalho foi utilizar um bioprocesso integrado utilizando-se diferentes resíduos, bioprocessos e micro-organismos, que combinados pudessem viabilizar a produção dos compostos mencionados. Dentre os resíduos foram estudados o bagaço de cana-de-açúcar, bagaço de laranja (polpa cítrica), torta de algodão, farelo de soja e outros com e sem pré-tratamento. Dentre os pré-tratamentos utilizados estão pré-tratamentos térmicos com ácido ou base. Também foram avaliados pré-tratamentos biológicos dos resíduos pelo cultivo de fungos filamentosos e unicelulares para produção enzimática. Tais substratos foram cultivados por fungos filamentosos com destaque para o *Trichoderma reesei* para a produção de enzimas fibrolíticas. Desta forma procurou-se integrar estes processos visando à produção de açúcares fermentescíveis. Como produtos secundários foram obtidos biomassa proteica (cogumelos comestíveis) e resíduo proteico que podem ser estudados para a alimentação animal. Para tanto, o trabalho foi dividido em 3 capítulos que foram executados simultaneamente.

Palavras chave: Resíduos lignocelulósicos; enzimas do complexo fibrolítico; *Trichoderma reesei*; pré-tratamento; sacarificação; *Pleurotus ostreatus*.

Abstract

Currently the lignocellulosic residues, particularly the agroindustrial wastes are being targeted for use in biotechnological processes. If the waste is conveniently hydrolysed their carbohydrates can be used for various purposes such as production of microbial biomass, fermentable sugars, bioenergy and high-value compounds such as enzymes. The enzymes of fibrolytic complex are among the most promising enzymes for bioconversion of these wastes. The aim of this study was to use an integrated bioprocess using different waste, bioprocesses and micro-organisms that they combined could be enable the production of these compounds. Among the wastes were studied the sugarcane bagasse, orange peel (citrus pulp), cottonseed meal, soybean meal and others with and without pre-treatment. Among the used pre-treatments are thermal pretreatments with acid or base. Biological pre-treatments of these wastes also were evaluated by the cultivation of unicellular and filamentous fungi for obtaining pretreated residues. Such substrates were cultured by other fungus such as *Trichoderma reesei* for fibrolytic enzyme production. In this way the integration of these processes was performed for the production of fermentable sugars. As by-products were obtained protein biomass (edible mushrooms) and protein residue that can be studied for animal feed. Therefore, the work was divided into three chapters, which were done simultaneously.

Keywords: Lignocellulosic residues; enzymes of the fibrolytic complex; *Trichoderma reesei*; pretreatment; saccharification; *Pleurotus ostreatus*.

1. Introdução

O desenvolvimento econômico brasileiro está associado ao processo de independência entre os ramos industriais e os diferentes setores produtivos, como a agricultura e o agronegócio. Sendo que esta mesma abordagem econômica desempenha papel importante no país (CARDOSO et al., 2015). Entretanto, a obtenção desses produtos agrícolas gera grande quantidade de resíduos agroindustriais lignocelulósicos (FILHO & FRANCO, 2015), que apesar de serem considerados sérios problemas ambientais, podem servir como ricas fontes de carboidratos fermentescíveis (CASTRO & PEREIRA, 2010). O conveniente aproveitamento desses resíduos resultaria em maiores ganhos econômicos, uma grande diminuição do impacto ambiental e a possibilidade da produção de novos produtos de interesse para a sociedade. Tendo como base esse conceito, somente com novas inovações tecnológicas envolvendo questões da produtividade e somando as relações do homem com a terra, será possível o desenvolvimento de um agronegócio sustentável (CARDOSO et al., 2015).

Os resíduos agroindustriais são amplamente produzidos e destacam-se em quantidades significativas: casca de cereais, palha e farelo de arroz, palha e farelo de trigo, de soja, bagaço de cana-de-açúcar, folha de mandioca, bagaço de laranja, resíduos de algodão, palha de bananeira, dentre outros (FILHO & FRANCO, 2015). Estes resíduos podem servir como substratos para o cultivo de fungos lignocelulolíticos e produção de suas enzimas (CASTRO & PEREIRA, 2010; SHARMAA & ARORAB, 2015).

Os resíduos agroindustriais lignocelulósicos são estruturas duras e fibrosas, constituindo-se de três frações fundamentais: celulose, hemicelulose, lignina (SUN & CHENG, 2002). A maioria destes materiais é parcialmente ou não aproveitada, podendo ser transformadas em poluentes do meio ambiente (SCHUCHARDT, et al, 2001; FILHO & FRANCO, 2015). Dentre as várias possibilidades de aplicação desses resíduos estão: a produção de biomassa microbiana para alimentação humana e animal, açúcares fermentescíveis e especiais, bioenergia e enzimas (AGBHEVOR, 2004; SHARMAA & ARORAB, 2015).

Para uma utilização eficiente destas biomassas são necessários tratamentos prévios, ou pré-tratamentos, os quais vêm sendo estudados para separação dos componentes destas biomassas (GUERRIERO, et al., 2016; SAINI, et al., 2015). O pré-tratamento pode ser feito por métodos físico-químicos utilizando-se ácidos (hidrólise ácida) ou álcali (hidrólise alcalina), com o propósito de desagregar a estrutura associativa da lignocelulose. Em uma etapa posterior ao pré-tratamento para a utilização dessas biomassas é o uso de enzimas (hidrólise enzimática) (LEE, et al., 2015), produzidas por micro-organismos que se alimentam desta matéria orgânica, sendo o fungo *Trichoderma reesei* um dos mais utilizados entre os micro-organismos pelas indústrias na produção das enzimas (BISCHOF et al., 2016). Pois esses fungos são conhecidos pela liberação do complexo enzimático fibrolítico podendo degradar as biomassas em condições suaves sem gerar subprodutos tóxicos e, conseqüentemente, facilita e possibilita a sua utilização pela indústria biotecnológica (GUPTA, et al., 2016).

Outro grupo de fungo importante na hidrólise da biomassa lignocelulósica são os basidiomicetos que podem utilizar diversos resíduos agroindústrias e além da produção de enzimas podem ser empregados como suplementação de fontes de C/N (Carbono/Nitrogênio). Os fungos do grupo dos basidiomicetos vêm crescendo de importância há muito tempo devido à possibilidade de reciclar economicamente certos resíduos agrícolas e agroindustriais (DAOU et al., 2016).

No atual contexto mundial há uma necessidade da aquisição de recursos práticos e viáveis, economicamente, para a obtenção de fontes de energias renováveis e alimentos, e para o reaproveitamento dos resíduos lignocelulósicos. Desta forma, este trabalho tem como finalidade o desenvolvimento de um bioprocesso integrado visando à obtenção de açúcares fermentescíveis, produção de enzimas do complexo fibrolítico, assim como cogumelos comestíveis, e uma possível aplicação de biomassa residual proteica para ração animal, utilizando-se como substratos, diferentes resíduos agroindustriais.

Conclusão geral

O processo biointegrado realizado nesse trabalho obteve resultados interessantes e aplicáveis, visto que o principal objetivo foi alcançado, que foi a produção do complexo fibrolítico com alta atividade hidrolítica. Para tanto, esses valores elevados de atividade só foram conseguidos por uma ação integrada entre as diferentes etapas desse trabalho. Como no caso do substrato *T1*, este último sendo um dos produtos finais do capítulo 3, serviu como substrato para o cultivo do fungo *T. reesei* QM9414 e produção das enzimas celulolíticas e xilanolíticas. Essas enzimas produzidas e concentradas no capítulo 1 serviram como catalizadores na hidrólise da biomassa deslignificada, que por sua vez foi estudada e produzida no capítulo 2 desse trabalho. Assim ao longo de diversas etapas, que agiram de forma simultânea e sinérgica, foi possível utilizar diferentes biomassas lignocelulósicas para produzir diferentes produtos. Dentre eles, enzimas fibrolíticas com altas atividades, cogumelos comestíveis, biomassa proteica e açúcares redutores, que por sua vez, em futuros estudos poderão ser utilizados na produção do bioetanol de segunda geração ou outros produtos de alto valor agregado. Além de uma boa extração de hemicelulose e lignina que poderão ser utilizadas em futuros estudos de processos biotecnológicos e biorrefinaria.

Referências Bibliográficas

AGBHEVOR, F.A.; WEBER, J. **Microbubble fermentation of *Trichoderma reesei* for cellulase production.** *Process Biochemistry*, v.40, p.669-679, 2004.

AGÊNCIA NACIONAL DE PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS (ANP). **Dados Estatísticos**, Disponível em www.anp.gov.br. Acessado em março de 2012.

AGUIAR, C.L. & MENEZES, T.J.B. **Produção de celulasas e xilanases por *Aspergillus niger* IZ-9 usando fermentação submersa sobre bagaço de cana-de-açúcar.** *Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos*, Curitiba, v.18, n.1, p.57-70, 2000.

AHAMED, A.; VERMETTE, P.. **Enhanced enzyme production from mixed cultures of *Trichoderma reesei* RUT-C30 and *Aspergillus niger* LMA grown as fed batch in a stirred tank bioreactor.** *Bioch. Eng. J.* 42, p.41-46, 2008.

AKCAPINAR, G.B.; VENTURINI, A.; MARTELLI, P.L. CASADIO, R.; SEZERMAN, U.O. **Modulating the thermostability of Endoglucanase I from *Trichoderma reesei* using computational approaches.** *Protein Engineering, Design and Selection*, v. 28:5, p.127-135, 2015.

ALVIRA, P.; NEGRO, M.J.; BALLESTEROS, I.; GONZÁLEZ, A.; BALLESTEROS, M. **Steam Explosion for Wheat Straw Pretreatment for Sugars Production.** *Bioethanol*, v. 2, p.66-75, 2016.

ARAÚJO, A.E. et al. **Cultura do algodão herbáceo na agricultura familiar.** *Embrapa Algodão Sistemas de Produção*, 1 Jan/2003. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Algodao/AlgodaoAgriculturaFamiliar>, acessado em: 01/03/2016.

ATALLA, R.H.; HACKNEY, J.M.; UHLIN, I.; THOMPSON, N.S. **Hemicelluloses as structure regulators in the aggregation of native cellulose.** *Int. J. Biol. Macromol.*, v.15, p.109-112, 1993.

BALANÇO ENERGÉTICO NACIONAL de 2015 (BEN), Disponível em www.ben.epe.gov.br. Acessado em julho de 2016.

BALAT, M.; BALAT, H., O'ZB, C. **Progress in bioethanol processing.** *Progress in Energy and Combustion Science*, v.34, p.551-573, 2008.

BÉGUIN, P. **Molecular biology of cellulose degradation.** *Annual Review of Microbiology*, v.44, p.219-248, 1990.

BENOLIEL, B.; TORRES, F.A.G; MORAES, L.M.P. **A novel promising *Trichoderma harzianum* strain for the production of a cellulolytic complex using sugarcane bagasse *in natura*.** *Springer Plus*. 2:656, 2013.

BERLIN, A. et al. **Weak lignin-binding enzymes: a novel approach to improve activity of cellulases for hydrolysis of lignocellulosics.** *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v.121, p.163-170, 2005.

BIDLACK, J.; MALONE, M.; BENSON, R. **Molecular structure and component integration of secondary cell wall in plants.** *Proc. Okla. Acad. Sci.*, v.72, p.51-56, 1992.

BISCHOF, R.H.; RAMONI, J.; SEIBOTH, B. **Cellulases and beyond: the first 70 years of the enzyme producer *Trichoderma reesei*.** *Microbial Cell Factories*, v.15:106, 2016.

BONATTI, M.; KARNOPP, P.; SOARES, H.M.; FURLAN, S.A. **Estudo da composição de cogumelos das espécies *Pleurotus ostreatus* e *Pleurotus sajor-caju* cultivados em palha de bananeira.** *Revista Saúde e Ambiente / Health and Environment Journal*, v.4:1, p.31-35, 2003.

BONONI, V. L. et al. **Cultivo de cogumelos comestíveis.** São Paulo, SP: Ícone, 1999.

BONONI, V.L.R.; CAPELARI, M; MAZIERO R.; TRUFEM, S.F.B. **Cultivo de cogumelos comestíveis.** São Paulo: *Cultivo de *Lentinus edodes* (shiitake)*. (Coleção Brasil Agrícola), p.95-104, 1995.

BREENE, W.M. **Nutritional and medicinal value of specialty mushrooms.** *Journal of Food Protection*, v.53, p.883-894, 1990.

BUCKERIDGE, M. S.; DOS SANTOS, W.; SOUZA, A. P. **As rotas para o etanol celulósico no brasil.** CORTEZ, L.A.B. Em *Bioetanol de Cana-de-Açúcar: P&D para Produtividade Sustentabilidade*, cap. 7, parte 3, 2010.

BUSWELL, J. A., CAI, Y.J., CHANG, S.T., PEBERDY, J.F., FU, S.Y., YU, H. S. **Lignocellulolytic enzyme profiles of edible mushroom fungi.** *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, n.12, p.537-542, 1998.

CALL, H. P.; MUCKE, I. **History, overview and applications of mediated lignolytic systems, especially laccase-mediator-systems (Lignozym®-process).** *J. Biotechnol*, v.53, p.163-202, 1997.

CAMASSOLA, M.; DILLON, A.J.P. **Effect of Different Pretreatment of Sugar Cane Bagasse on Cellulase and Xylanases Production by the Mutant *Penicillium echinulatum* 9A02S1 Grown in Submerged Culture.** *BioMed Research Intern*. p.9, 2014.

CANILHA, L.; SANTOS, V.T.O.; ROCHA, G.J.M.; SILVA, J.B.A.; GIULIETTI, M.; SILVA, S.S.S.; FELIPE, M.G.A.; FERRAZ, A.; MILAGRES, A.M.F.; CARVALHO, W. **A study on the pretreatment of a sugarcane bagasse sample with dilute sulfuric acid.** *J. Ind. Microb. Biotec.* 38:9, p.1467-1475, 2011.

CANO, A.; MOSCHOU, E.A.; DAUNERT, S.; COELHO, J.; PALET, C. **Optimization of the xylan degradation activity of monolithic enzymatic membranes as a function of their composition using design of experiments.** *Bioprocess and Biosystems Engineering*, v. 29, p. 261-268, 2006.

CARDOSO, J.F.; MIGUEL, P.A.C.; FILHO, N.C. **INOVAÇÃO NA AGRICULTURA BRASILEIRA: UMA ANÁLISE DA LITERATURA.** *Geintec – Gestão, Inovação e Tecnologia*, v.5:4, 2015.

CARVALHO, A.F.A.; OLIVA-NETO, P.; SILVA, D.F.; PASTORE, G.M. **Xylo-oligosaccharides from lignocellulosic materials: Chemical structure, health benefits and production by chemical and enzymatic hydrolysis.** *Food Reser. Intern.* v.51, p.75-85, 2013.

CARVALHO, M.L.A.; CARVALHO, D.F.; GOMES, E.B.; MAEDA, R.N.; ANNA, L.M.M.S.; CASTRO, A.M.; PEREIRA JR, N. **Optimisation of Cellulase Production by *Penicillium funiculosum* in a Stirred Tank Bioreactor Using Multivariate Response Surface Analysis.** *Enz. Reseach.* p.8, 2014.

CASTRO, A. M. & PEREIRA JR., N. **Produção, propriedades e aplicação de celulases na hidrólise de resíduos agroindustriais,** *Quim. Nova* v.33, p.181-188, 2010.

CENTRO DE ESTUDOS AVANÇADOS EM ECONOMIA APLICADA – CEPEA. **Valores do PIB do agronegócio brasileiro, fevereiro de 2016.** Disponível em <http://www.cepea.esalq.usp.br/pib/> . Acessado em julho de 2016.

CHANG, C.J.; LEE, C.C.; CHAN, Y.T.; et al. **Exploring the Mechanism Responsible for Cellulase Thermostability by Structure-Guided Recombination.** *Plosone*, v.11:3, 2016.

CHANG, S.T. & HAYES W.A. **The biology and cultivation of edible mushrooms.** New York: *Academic Press*, 1980.

CHANG, S.T.; LARQUE SAAVEDRA, A.; MARTINEZ CARRERA, D.; MORALES, M.; SOBAL, M. **The cultivation of edible mushrooms as a boost for rural development: a case study from Cuetzalan ara, México: AT Source**, v.20, n.1, p.22-25, 1992.

CHOKHAWALA, H.A.; ROCHE, C.M.; KIM, T.W.; et al. **Mutagenesis of *Trichoderma reesei* endoglucanase I: impact of expression host on**

activity and stability at elevated temperatures. *BMC Biotechnology*, v. 15:11, 2015.

CHUM, H.L.; WARNER, E.; SEABRA, J.E.A.; MACEDO, I.C. **A comparison of commercial ethanol production systems from Brazilian sugarcane and US corn.** *Bioprod. Bioref.*, v.8, p.205-223, 2013.

CLAEYSSSENS, M. & TOMME, P. **Structure function relationships of cellulolytic proteins from *Trichoderma reesei***, In: KUBICEK, C.P. et al. **Ed *Trichoderma reesei* Cellulases.** *Biochemistry, Genetics, Physiology and Application, Technical Communications and Springer Gmb H.*, p.1-11, 1989.

COELHO, M.Z.; LEITE, S.G.F.; ROSA, M.F.; FURTADO, A.A.L. **Aproveitamento de resíduos agroindustriais: Produção de enzimas a partir da casca de coco verde.** *CEPP*, v.19, n.1, p.33-42, 2001.

COHEN, R.; PERSKY, L.; HADAR, Y. **Biotechnological applications and potential of wooddegrading mushrooms of the genus *Pleurotus*.** *Applied Microbiology and Biotechnology*, Berlim, v.58, p.582–594, 2002.

CURVETTO, N.R. **Cultivo de *Pleurotus*, *Lentinula edodes* y *Ganoderma lucidum* sobre substrato conteniendo cáscara de semilla de girasol.** In: *INTERNACIONAL SYMPOSIUM ON MUSHROOMS IN FOOD, HEALTH, TECHNOLOGY AND THE ENVIRONMENT IN BRAZIL*, 1.,2003, Brasília. Proceedings.Brasília: EMBRAPA – Recursos Genéticos, 2003. p.81-87, 2003.

DALSENTER, F.D.H. **Contribuição ao Estudo da proposta ZERI para um Resíduo Agroindustrial Utilizando Processo Biotecnológico.** Dissertação de Mestrado, FURB, Blumenau, SC, 2000.

DAS, N.; MUKHERJEE, N. **Cultivation of *Pleurotus ostreatus* on weed plant.** *Bioresour. Technol.*, v.98, p.2723-2726, 2007.

DASHTBAN, M.; MAKI, M.; LEUNG, K.T.; MAO, C.; QIN, W. **Cellulase activities in biomass conversion: measurement methods and comparison.** *Critical Review in Biotechnology*, v.30, n.4, p.302-309, 2010.

DASHTBAN, M.; SCHRAFT, H.; QIN, W. **Fungal bioconversion of lignocellulosic residues; opportunities & perspectives.** *Int. J. Biol. Sci.* v.5:6, p.578-595, 2009.

DASILVA E. & SASSON A. **Biotechnologies: an agenda for development.** *Biotechn. Develop. Review*, v.4, p.37-47, 1995.

DELABONA, P.S.; FARINAS, C.S.; SILVA, M.R.; AZZONI, S.F.; PRADELLA, J.G.C. **Use of a new *Trichoderma harzianum* strain isolated from the Amazon rainforest with pretreated sugar cane bagasse for on-site cellulase production.** *Bioresource Technology*, v.107, p.517-521, 2012b.

DELABONA, P.S.; PIROTA, R.D.P.B.; CODIMA, C.A.; TREMACOLDI, C.R.; RODRIGUES, A.; FARINAS, C.S. **Using Amazon forest fungi and agricultural residues as a strategy to produce cellulolytic enzymes.** *Biomass and Bioener.* v.37, p.243-250, 2012a.

DETROY, R.W. LINDENFELSER, L.A.; SOMMER, S.; ORTON, W.L. **Bioconversion of wheat straw to ethanol: Chemical modification, enzymatic hydrolysis, and fermentation.** *Biotechnology and Bioengineering*, v.23, p.1527-1535, 1981.

DAOU, M.; PIUMI, F.; CULLEN, D.; RECORD, E.; FAULDS, C.B. **Heterologous Production and Characterization of Two Glyoxal Oxidases from *Pycnoporus cinnabarinus*.** *Appl. Environ. Microbiol.* v.82:14, 2016.

DONINI, L. P.; BERNARDI, E.; NASCIMENTO, J. S. DO. **Colonização do substrato capim-elefante suplementado com farelos *Pleurotus ostreatus*.** *Revista de Biologia e Ciências da Terra.* v.6, n.2, 2006.

DURÁN, N. & ESPOSITO, E. **Biodegradação de lignina e tratamento de efluentes por fungos lignolíticos.** 2008. In: MELO, I.S.; AZEVEDO, J.L. *Microbiologia ambiental*, Jaguariúna: CNPM/EMBRAPA, p. 304-319, 2008.

EIRA, A. F. **Cultivo de cogumelos comestíveis e medicinais: situação atual e perspectivas para o Brasil.** In: *Internacional symposium on mushrooms in food, health, technology and the environment in brazil*, 1., 2003, Brasília. **Proceedings**, Brasília: EMBRAPA – recursos genéticos, p.42-70. 2003.

EIRA, A.F.; MINHONI, M.T.A. **Manual teórico-prático do cultivo de cogumelos comestíveis.** 2.ed. Botucatu: Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais, 115pp., 1997

ELISASHVILI, V.; PENNINGCKX, M.; KACHLISHVILI, E.; TSIKLARI, N.; METREVELI, E.; KHARDZIANI, T.; AGATHOS, S.N. **Lignocellulose degrading enzyme production by white-rot Basidiomycetes isolated from the forests of Georgia.** *World J. Microbiol. Biotechnol.*, v.25, p.331–339, 2009.

ELISASHVILI, V.L. **Biosynthesis and properties of cellulases and xylanases of higher *Basidiomycetes*.** *Applied Biochemistry and Microbiology*, New York, v.29, p.257-266, 1993.

ERIKSSON, K.E. **Biotechnology in the pulp and paper industry.** *Wood Science and Technology*, New York, v.24, p.79-101, 1990.

ESPERANÇA, M.N.; CUNHA, F.M.; CERRI, M.O.; ZANGIROLAMI, T.C.; FARINAS, C.S.; BADINO, A.C. **Gas hold-up and oxygen mass transfer in three pneumatic bioreactors operating with sugarcane bagasse suspensions.** *Bioproc. Biosyst. Eng.* v.37:5, p.805-812, 2014.

FAN, L. et al. **Cultivation of Pleurotus Mushroom on brazilian coffee husk and effects of caffeine and tannic acid.** *Micologia Aplicada Internacional*, Puebla, v.15:1, p.15-21, 2003.

FAN, L.; SOCCOL, A.T.; PANDEY, A.; VANDENBERGHE, L.P.S. **Effect of caffeine and tannins on cultivation and fructification of Pleurotus on coffee husks.** *Braz. J. Microbiol.*, v.37, p.420-424, 2006.

FAPESP (Fundação de Amparo e Pesquisa do Estado de São Paulo). **Propriedades do bagaço da cana-de-açúcar.** *Revista Pesquisa FAPESP*, ed.30, abril 1998.

FENGEL, D. & WEGENER, G. **Wood chemistry, ultrastruture, reactions.** *Berlin: Walter de Gruyter*, 613p., 1989.

FERRAZ, A.L. **Fungos decompositores de materiais lignocelulósicos.** In: ESPOSITO, E.; AZEVEDO, J. L. (Ed.). **Fungos: uma introdução à biologia, bioquímica e biotecnológica.** Caxias do Sul: Educ., 510p., 2004.

FERREIRA, S.; DUARTE, A.; QUEIROZ, J.; DOMINGUES, F. **Influence of buffer systems on *Trichoderma reesei* Rut C-30 morphology and cellulase production.** *Electronic Journal of Biotechnology*, 2009.

FILHO, L.A.B.O. **Cooperação Internacional na Produção de Etanol: Limites e Oportunidades.** 2009. *Dissertação* (Mestrado em Agroenergia) - Escola de Economia de São Paulo, FVG,Campinas, 103pp., 2009.

FILHO, W.B.N.; FRANCO, C.R. **Avaliação do Potencial dos Resíduos Produzidos Através do Processamento Agroindustrial no Brasil.** *Revista Virtual de Química*, v.7:6, p.1968-1987, 2015.

FREITAS, C.A.; ESCARAMBONI, B.; CARVALHO, A.F.A.; LIMA, V.M.G.; OLIVA-NETO, P. **Production and application of amylases of *Rhizopusoryzae* and *Rhizopusmicrosporus* var. oligosporus from industrial waste in acquisition of glucose.** *Chem. Pap.* v.68:4, p.442-450, 2014.

FURLANI, R.P.Z. & GODOY, H.T. **Valor nutricional de cogumelos comestíveis.** *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, v.64, n.2, p.149-154, 2005.

GAITÁN-HERNÁNDEZ, R.; ESQUEDA, M.; GUTIÉRREZ, A.; SÁNCHEZ, M.B.G.; MATA, G. **Bioconversion of agrowastes by *Lentinula edodes*: the high potencial of viticulture residues.** *Appl. Microbiol. Biotechnol.* v.71, p.432-439, 2006.

GAMA, F.M.; MOTA, M.; BASTOS, M.; DOURADO, F. **Studies on the properties of Celluclast/Eudragit L-100 conjugate.** *Journal of Biotechnology*, v.99, p.121-131, 2002.

GARROTE, G.; DOMINGUEZ, H.; PARAJO, J.C. **Autohydrolysis of corncob: study of non-isothermal operation for xylooligosaccharide production.** *J. Food Eng.*, n.52, p.211-218, 2002.

GHOSE, T.K. **Measurement of cellulose activities.** *Pure Appl Chem*, v.59, p.257-268, 1987.

GIORDANO, R.L.C. **Perspectivas e desafios para a engenharia química no século XXI em busca do equilíbrio, ou uma política 3R para o planeta Terra.** *Revista Brasileira de Engenharia Química*, v.21, n.3, p.26-30, 2004.

GOMES, I.; GOMES, J.; STEINER, W.; ESTERBAUER, H. **Production of cellulase and xylanase by a wild strain of *Trichoderma viride*.** *Appl. Microbiol. Biotechnol.* v.36, p.701-707, 1992.

GONG, C.S. & TSAO, G.T. **Cellulase and biosynthesis regulation.** *Annual Reports on Fermentation Processes*, New York, v.3, p.111-139, 1975.

GRGIC, I.; PERDIH, A. **Stimulation of ligninolytic enzyme production in *Phanerochaete chrysosporium* by polyxyalkanes.** *Journal of Applied Microbiology*, Oxford, v.94, p.360-368, 2003.

GRUPO URAKAMI. **Conheça os cogumelos.** Disponível em www.cogumelosurakami.com. Acesso em março de 2012.

GUPTA, V.K.; KUBICEK, C.P.; BERRIN, J.G.; WILSON, D.W.; COUTURIER, M.; BERLIN, A.; FILHO, D.X.F.; EZEJI, T. **Fungal Enzymes for Bio-Products from Sustainable and Waste Biomass.** *Trends in Biochemical Sciences*, v.41:7, p.633-645, 2016.

GUPTA, A.; VERMA, J.P. **Sustainable bio-ethanol production from agro-residues: A review.** *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 41, p.550-567, 2015.

GUERRIERO, G.; HAUSMAN, J.F.; STRAUSS, J.; ERTAN, H.; SIDDIQUI, A.S. **Lignocellulosic biomass: Biosynthesis, degradation, and industrial utilization.** *Engineering in Life Sciences*, v.16:1, p.1-16, 2016.

HAAB, D.; HAGSPIEL, K.; SZAKMARY, K.; KUBICEK, C.P. **Formation of the extracellular proteases from *Trichoderma reesei* QM 9414 involved in cellulase degradation.** *Journal of Biotechnology*. v.16:3-4, p.187-198, 1990.

HAQ, I.U.; JAVED M.M.; KHAN T.S. **An innovative approach for hyper production of cellulolytic and hemicellulolytic enzymes by consortium of *Aspergillus niger* MSK-7 and *Trichoderma viride* MSK-10.** *Afr. J. Biotechnol.* v.5:8, p.609-614, 2006.

HÄKKINEN, M.; SIVASIDDARTHAN, D.; ARO, N.; SALOHEIMO, M.; PAKULA, T.M. **The effects of extracellular pH and of the transcriptional regulator PACI on the transcriptome of *Trichoderma reesei***. *Microbial Cell Factories*, v.14:63, 2015.

HATAKKA A. **Lignin-modifying enzymes from selected white-rot fungi: production and role in lignin degradation**. *FEMS Microbiology Reviews*, Amsterdam, v.13, p 125-135, 1994.

HENRIKSSON, G.; LENNHOLM, H. E.M. *Pulp and Paper Chemistry and Technology*; Ek, M.; GELLERSTEDT, G.; HENRIKSSON, G., eds.; De Gruyter: Stoclm, v.1, p.103-121, 2009.

HIGHLEY T.L. **Influence of carbon source on cellulase activity of white-rot and brown-rot fungi**. *Spring*, v.5, p.50-58, 1973.

HIMMEL, M. E.; DING, S. Y.; JOHNSON, D. K.; ADNEY, W. S.; NIMLOS, M. R.; BRADY, J. W.; **Biomass recalcitrance: engineering plants and enzymes for biofuels production**. *Science*, v. 315, 804-807, 2007.

HINDERS, R. **Common byproduct feedstuffs nutrient profiles confirmed in California study**. *Feedstuffs*. V.72:25, p.10, 2000.

HON, D.N.S. **Chemical modification of lignocellulosic materials**. Inc. CRC Press, 384p., 1995.

HORWITZ, W. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. Arlington: AOAC - Association of Official Analytical Chemists - Inc., 17ed., v.1 e v.2, 2000.

INSTITUTO DE PESQUISA ECONÔMICA APLICADA – IPEA. **Desempenho e crescimento do agronegócio no Brasil**. Brasília, 43pp., 2004.

ISMAIL, A.S. **Utilization of orange peels for the production of multienzyme complexes by some fungal strains**. *Process Biochem.*, v.1, p.645–650, 1996.

ÍTALO, L.C.V., SANTOS, G.T., JOBIM, C.C.; VOLOTINI, T.V.; FARIA, K.P.; FERREIRA, B.C.C. **Composição e digestibilidade aparente da silagem de bagaço de laranja**. *Revi. Bras. Zootec.*, v.29, p.1485-1490, 2000.

JACQUEMIN, L.; MOGNI, A.; ZEITOUN, R.; GUINOT, C.; SABLAYROLLES, C.; SAULNIER, L.; PONTALIERA, P.Y. **Performance evaluation of a semi-industrial production process of arabinoxylans from wheat bran**. *Process Biochemistry*, v. 50:4, p.605-613, 2015.

JORGENSEN, H.; MORKEBERG, A.; KROGH, K.; OLSSON, L. **Production of cellulases and hemicellulases by three *Penicillium***

species: effect of substrate and evaluation of cellulose adsorption by capillary electrophoresis. *Enzyme and Microbial Technology*, New York v.36, p.42-48, 2005.

JORGENSEN, H.; MORKEBERG, A.; KROGH, K.; OLSSON, L. **Production of cellulases and hemicellulases by three *Penicillium* species: effect of substrate and evaluation of cellulose adsorption by capillary electrophoresis.** *Enzyme and Microbial Technology*, New York v.36, p.42-48, 2005.

JOURDIER, E.; COHEN, C.; POUGHON, L.; LARROCHE, C.; MONOT, F.; CHAABANE, F.B. **Cellulase activity mapping of *Trichoderma reesei* cultivated in sugar mixtures under fed-batch conditions.** *Biotechnol. Bioeng.*, v.6., 2013.

JUHA'SZ, T.; SZENGYEL, Z.; RE'CZEY, K.; SIIKA-AHO, M.; VIKARI, L. **Characterization of cellulases and hemicellulases produced by *Trichoderma reesei* on various carbon sources.** *Process Biochemistry*, Londres, v.40, p.3519–3525, 2005.

JUSTO, M.B.; et al. **Calidad proteínica de três cepas mexicanas de setas (*Pleurotus ostreatus*).** *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, v.49:1, p.81-85, 1999.

KAMRA, D. N. & ZADRAZIL, F. **Influence of gaseous phase light and substrate pretreatment on fruit-body formation, lignin degradation and *in vitro* digestibility of wheat straw fermented with *Pleurotus spp.*** *Agricultural Wastes*, v.18, p.1-17, 1986.

KÄRCHERA, M.A.; IQBALB, Y.; LEWANDOWSKIB, I.; SENNA, T. **Efficiency of single stage- and two stage pretreatment in biomass with different lignin content.** *Bioresource Technology*, v. 211, p.787-791, 2016.

KIM, J.S.; LEEB, Y.Y.; KIM, T.H. **A review on alkaline pretreatment technology for bioconversion of lignocellulosic biomass.** *Bioresource Technology*, v.199, p.42-48, 2016.

KIM, S.; HOLTZAPPLE, M.T. **Effect of structural features on enzymedigestibility of corn stover.** *Bioresources and Technology*, v 97, p.583–591, 2006.

KIN, S.W. **Production of cellulase and hemicellulase by *Aspergillus niger* KK2 from lignocellulosic biomass.** *Bioresource Technology*, v.91, p.153-156, 2004.

KIRK, T. K.; CROAN, S.; TIEN, M. **Production of multiple ligninases by *Phanerochaete chrysosporium*: effect of selected growth conditions and use of a mutant strain.** *Enzyme and Microbial Technology*, New York, v.8, p.27-32, 1986.

KIRK, T.K.; CULLEN, D. **Enzimology and molecular genetics of wood degradation by white-rot fungi**. In: KIRK, T.K. **Environmentally friendly technologies for the pulp and paper industry**. New York: John Wiley & Sons, p.273-30, 1998.

KIYOHARA, M.; HAMA, Y.; YAMAGUCHI, K.; ITO, M. **Structure of 1,3-xylooligosaccharides generated from *Caulerpa racemosa* var. *laete-virens* 1,3-xylan by the action of 1,3-xylanase**. *Journal of Biochemistry*, v.140, p.369-373, 2006.

KLINKE, H.B.; THOMSEN, A.B.; AHRING, B.K. **Inhibition of ethanol-producing yeast and bacteria by degradation products produced during pre-treatment of biomass**. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v.66:1, 10-26, 2004.

KLYOSOV, A.A. **Trends in biochemistry and enzymology of cellulose degradation**. *Biochemistry*, Washington, v.29, p.10577–10585, 1990.

KOMPALA, D.R.; RAMKRISHNA, D.; JANSEN, N.B.; TSAO, G.T. **Investigation of bacterial growth on mixed substrates: Experimental evaluation of cybernetic models**. *Biotechnology and Bioengineering*, v.28:7, p.1044-1055, 1986.

KOSARIC, N. & VARDAR-SUKAN, F. **Potential Source of Energy and Chemical Products**. *The Biotechnology of Ethanol*. M. Roehr. Weinheim, WILEY-VCH. 2001.

KUHAD, R.C.; SINGH, A. **Critical Reviews in Biotechnonology**. *Cleveland*, v.13, p.126-139, 1993.

KULKARNI, N.; SHENDYE, A.; RAO, M. **Molecular and biotechnology aspects of xylanases**. *FEMS Microbiology Reviews*, v.23, p.411-456, 1999.

KUPSKI, L.; PAGNUSSATT, F.A.; BUFFON, J.G.; FURLONG, E.B. **Endoglucanase and Total Cellulase from Newly Isolated *Rhizopusoryzae* and *Trichoderma reesei*: Production, Characterization, and Thermal Stability**. *Appl. Bioch. Biotechnol.*, v.172:1, p.458-468, 2014.

KURT, S. & BUYUKALACA, S. **Yield performances and changes in enzyme activities of *Pleurotus* spp. (*P. ostreatus* and *P. sajor-caju*) cultivated on different agricultural wastes**. *Bioresource Technology*, v.101, p.3164–3169, 2010.

KUWAHARA, M.; GLENN, J.K.; MORGAN, M.A.; GOLD, M.H. **Separation and characterization of two extracellular H₂O₂ dependent oxidases from lignolytic cultures of *Phanerochaete chrysosporium***. *FEBS Microbiology Letters*, Amsterdam, v.169, p.247-250, 1984.

LANGH, E.; ELLER, G.; ZADRAZIL, F. **Lignocellulose decomposition and production of ligninolytic enzymes during interaction of white rot**

fungi with soil microorganisms. *Microbial Ecology*, New York, v.34, p.1-10, 1997.

LASER, M.; SCHULMAN, D.; ALLEN, S.G.; LICHWA, J.; ANTAL, M.J.; LYND, L.R. **A comparison of liquid hot water and steam pretreatments of sugar cane bagasse for bioconversion to ethanol.** *Bioresource Tech.*, v.81, n.1, p.33-44, 2002.

LEE, J.W.; KIMB, J.Y.; JANGA, H.M.; LEEC, M.W.; PARKD, J.M. **Sequential dilute acid and alkali pretreatment of corn stover: Sugar recovery efficiency and structural characterization.** *Bioresource Technology*, v. 182, p.296-301, 2015.

LEE, K. & MOON, S.H. **Electroenzymatic oxidation of veratryl alcohol by lignin peroxidase.** *Journal of Biotechnology*, Amsterdam, v.102, p.261-268, 2003.

LEIGHTON, T.J.; DOI, R.H.; WARREN, R.A.J.; KELLN, R.A. **The relationship of serine protease activity to RNA polymerase modification and sporulation in *Bacillus subtilis*.** *J. Mol. Biol.*, v.76, p.103-122, 1973.

LINDEQUIST, U.; NIEDERMEYER, T.H.J.; JULICH, W.D. **The pharmacological potencial of mushrooms.** *eCAM*. v. 2, p.285-299, 2005.

LOBELLO, E.A. **Seleção de fungos celulolíticos isolados da Mata Atlântica e de bagaço de cana**, [Monografia]. Laboratório de biotecnologia industrial, Departamento de Ciências Biológicas, Faculdade de Ciências e Letras de Assis, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Assis, 2009.

LULL, C.; WICHES H.J.; SABELKOU, H.F.J. **Antiinflammatory and immunomodulating properties of fungal ethabolites.** *Mediators of inflammation*, v.2, p.63-80, 2005.

LYND, L.R.; ELANDER, R.T.; WYMAN, C.E. **Likely features and costs of mature biomass ethanol technology.** *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v.57, p.741-761, 1996.

MANDELS, M.; ANDREOTTI, R.E.; ROCHE, C. **Measurement of scarifying cellulose.** *Biotechnol. Bioeng. Symp.*, v.6, p.1471, 1976.

MANFREDI, A.P.; PISA, J.H.; VALDEON, D.H.; PEROTTI, N.I.; MARTINEZ, M.A. **Synergistic Effect of Simple Sugars and Carboxymethyl Cellulose on the Production of a Cellulolytic Cocktail from *Bacillus* sp. AR03 and Enzyme Activity Characterization.** *Applied Biochemistry and Biotechnology*, p.1-17, 2016.

MANSFIELD, S.D.; MOONEY, C.; SADDLER, J.N. **Substrate and enzyme characteristics that limit cellulose hydrolysis.** *Biotechnology Progress*, v.15:5, p.804-816, 1999.

MANZI, P.; GAMBELLI, L.; MARCONI, S.; VIVANTI, V.; PIZZOFERRATO, L. **Nutrients in edible mushrooms: an interspecies comparative study.** *Food Chemistry*, v.65, p.477-482, 1999.

MARINO, R.H. & ABREU, L.D. **Cultivo de cogumelo Shiitake em resíduo de coco suplementado com farelo de trigo e/ou arroz.** *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, v.4, n.1, p. 11-16, 2009.

MARINO, R.H.; EIRA, A.F.; CARDOSO, E.Q. **Melhoramento genético de *Pleurotus ostreatus* (Jacq.:Fr.) Kumm por cruzamento multispóricos visando a obtenção de isolados resistentes ao calor.** *Hoehnea*, v.33, p.349-357, 2006.

MASSUCCI, F.A.; GUIMERA, R.; AMARAL, L.A.N.; SALES-PARDO, M. **Scaling and optimal synergy: Two principles determining microbial growth in complex media.** *PHYSICAL REVIEW E*, v.91:6, 2015.

MATA, G. & PÉREZ-MERLO, R. **Spawn viability in edible mushrooms after freezing in liquid nitrogen without a cryoprotectant.** *Cryobiology*, v.47, p.14-20, 2003.

MATA, G.; CORTÉS, E.G.; SALMONES, D. **Mycelial growth of three *Pleurotus* (Jacq.: Fr.) P. Kumm. species on sugarcane bagasse: production of hydrolytic and oxidative enzymes.** *International Journal of Medicinal Mushrooms*, v.9, p.385–394, 2007.

MATTILA, P.; SUONPAA, K.; PIIRONEN, V. **Functional properties of edible mushrooms.** *Nutrition*, v.16, p. 694-696, 2000.

MENEGHETTI, C.C. & DOMINGUES, J.L. **Características nutricionais e uso de subprodutos da agroindústria na alimentação de bovinos.** *Revista Eletrônica Nutritime*, v.5, n2, p.512-536, Março/Abril 2008.

MENEZES, T.J.B. **Os fungos na indústria.** *Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v.31, n.2, p.116-120, 1997.

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

MINHONI, M.T.A.; ANDRADE, M.C.N.; ZIED, D.C.; KOPYTOWSKI FILHO, J. **Cultivo de *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler-(Shiitake).** 3.ed. FEPAF – Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais, Botucatu, SP. 91pp, 2007.

MINISTÉRIO DE AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). **Agroenergia. Acompanhamento da produção Sucroalcooleira. Dados Estatísticos de 2016**, Disponível em www.agricultura.gov.br, Acessado em julho de 2016.

MINISTÉRIO DE MINAS E ENERGIA (MME). **Resenha Energética Brasileira**. pp. 32, Edição de 2015. Disponível em <http://www.mme.gov.br/>. Acessado em julho de 2016.

MONTINI, R.M.C.; PASSOS, J.R.S.; EIRA, A.F. **Digital monitoring of mycelium growth kinetics and vigor of shiitake (*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler) on agar medium**. *Brazilian Journal of Microbiology*. v.37, p 90-95. 2006.

MOSIER, N.S., HENDRICKSON, R., WELCH, G., DRESCHER, R.; DIEN, B. **Corn fiber pretreatment scale up and evaluation in an industrial corn to ethanol facility**. *Paper 6A-04, 25th Symposium on Biotechnology for Fuels and Chemicals*, Breckenridge, 2003b.

MOSIER, N. S.; HENDRICKSON, R.; DRESCHER R. **Principles and economics of pretreating cellulose in water for ethanol production**. *Paper 103, BIOT Division, 225th American Chemical Society Meeting*, New Orleans, 2003a.

MOSIER, N.S.; WYMAN, C.; DALE, B.; ELANDER, R.; LEE, Y.Y.; HOLTZAPPLE, M.; LADISH, M. **Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass**. *Bioresour Technol*, v. 96, p. 673–686, 2005.

MUSSATO, I.S.; ROBERTO, I.C. **Produção biotecnológica de xilitol a partir da palha de arroz**. *Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento*, Brasília, n.28, p.34-39, 2002.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger Princípios de bioquímica**. Tradução de W.R. Loodi e A.A. Simões. São Paulo: Sarvier, 4ª Edição, 1202p, 2006.

NIDETZKY, B.; STEINER, W.; HAYN, M.; CLAEYSSSENS, M. **Cellulose hydrolysis by the cellulases from *Trichoderma reesei*: a new model for synergism interaction**. *The Biochemical Journal*, Londres, v.298, p.705-710, 1994.

NOVIKOVA, L.N.; MEDVEDEVA, S.A.; VOLCHATOVA, I.V.; BOGATYREVA, S.A. **Changes in Macromolecular characteristics and biological activity of hydrolytic lignin in the course of composting**. *Applied Biochemistry and Microbiology*, New York, v.38, p. 181-185, 2002.

O'SULLIVAN, A.C. **Cellulose: the structure slowly unravels**. *Cellulose*, v.4, p.171-207, 1997.

OBODAI, M.; CLELAND-OKINE, J.; VOWOTOR, K.A. **Comparative study on the growth and yield of *Pleurotus ostreatus*: Mushroom on different lignocellulosic by-products**. *J. Indust. Microbiol. Biotechnol.*, v.30, p.146-149, 2003

ODAC – **The Oil Depletion Analysis Centre**. Disponível em www.odac-info.org . Acesso em março de 2012.

OLSSON, L.; CHRISTENSEN, T.M.I; E., HANSEN, K.P.; PALMQVIST, E.A. **Influence of the carbon source on production of cellulases, hemicellulases and pectinases by *Trichoderma reesei* Rut C-30**. *Enz. Micr. Techn.*, v.33:5, p.612-619, 2003.

PALMQVIST, E.; HAHN-HAGERDAL, B. **Fermentation of lignocellulosics hydrolysates. I: inhibition and detoxification**. *Bioresource Technoly*, v.74, p.17–24, 2000a.

PALMQVIST, E.; HAHN-HAGERDAL, B. **Fermentation of lignocellulosics hydrolysates. II: inhibitors and mechanisms of inhibition**. *Bioresource Technoly*, v.74, p.25–33, 2000b.

PALONEN, H. et al. **Adsorption of *Trichoderma reesei* CBH I and EG II and their catalytic domains on steam pretreated softwood and isolated lignin**. *Journal of Biotechnology*, v. 107, p. 65-72, 2004.

PASCHOLATI, S.F. **Cogumelos – Cultivo e Comercialização** (Shiitake e Cogumelo do sol). Cuiabá: SEBRAE/MT, (Coleção Agroindústria nº 17), 85p., 1998.

PASCUAL, S.; MELGAREJO, P.; MAGAN, N. **Production of the fungal biocontrol agent *Epicoccum nigrum* by sold substrate fermentation: effect of water activity on accumulation of compatible solutes**. *Mycopathologia*, v.9, p.146:83, 1999.

PATRABANSH, S. & MADAN, M. **Studies on cultivation, biological efficiency and chemical analysis of *Pleurotus sajor-caju* (FR.) Singer on different bio-wastes**. *Acta Biotechnology*, v.17, p.107-122, 1997.

PATURAU, J.M. **By-products of the cane sugar industry: an introduction to their industrial utilization**. 3. ed. Amsterdam: Elsevier, 1989.

PEREIRA Jr., J.A.S.; CORREIA, M.J.; OLIVEIRA, N.T. **Cellulase activity of a *Lentinula edodes* (Berk.) Pegl. Strain grown in media containing carboximetilcellulose or microcrystalline cellulose**. *Brazilian archives of biology and technology*, v.46, n.3, p.333-337, 2003.

PEREIRA Jr., N.; COUTO, M.A.P.G.; SANTA ANNA, L.M.M. **Biomass of lignocellulosic composition for fuel ethanol production and the context of biorefinery**. In: *Series on Biotechnology*, Ed. Amiga Digital UFRJ, Rio de Janeiro, v.2, 45 p, 2008.

POLIZELI, M. L. T. M.; RIZZATTI, A. C. S.; MONTI, R.; TERENCEI, H. F.; JORGE, J. A.; AMORIM, D. S. **Xylanases from fungi: properties and industrial applications. Review**. *Appl. Microb. Biotechnol.*, v.67, p.577-591, 2005.

PRZYBYLOWICZ, P. & DONOGHUE, J. **Shiitake Growers Handbook – The art and science of mushroom cultivation**. Dubuque, Iowa: Kendall / Hunt, Publishing Company, 217pp., 1990.

PUTZKE, J. & PUTZKE, M.T.L. **Os reinos dos fungos**. Santa Cruz do Sul: EDUNISC, v.2, 214pp., 2002.

QUEIROZ, J.A.; TOMAZ, C.T.; CABRAL, J.M.S. **Hydrophobic interaction chromatography of proteins**. *Journal of Biotechnology*, v.87, p.143-159, 2001.

RADZICKA, A. & WOLFENDEN, R. **A proficient enzyme**. *Science*, v.6, p.90-931, 1995.

REESLEV, M. & KJOLLER A. **Comparison of Biomass Dry Weights and Radial Growth Rates of Fungal Colonies on Media Solidified with Different Gelling Compounds**. *Applied and environmental Microbiology*, v.61:12, p.4236–4239, 1995.

REIS, M.F.; DUCCA, F.; FERDINANDI, D.M.; ZONETTI, P.C.; ROSADO, F.R. **Análise de substratos alternativos para o cultivo de *Pleurotus ostreatoroseus* e *Pleurotus florida***. *Revista em Agronegócios e Meio Ambiente*, v.3:2, p.79-91, 2010.

ROCHA, V.A.L.; MAEDA, R.N.; SANTA, A.; LIDIA, M.M.; PEREIRA, N. **Sugarcane bagasse as feedstock for cellulase production by *Trichoderma harzianum* in optimized culture medium**. *Electron. J. Biotechnol.*, v.16:5, 2013.

ROSSI, I.H.; MONTEIRO, A.C.; MACHADO, J.O. **Desenvolvimento micelial de *Lentinula edodes* como efeito da profundidade e suplementação do substrato**. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.36, n.6, p.887-891, 2001.

RUEGGER, M.J.S. & TAUKE-TORNISIELO, S.M. **Atividade da celulase de fungos isolados do solo da Estação Ecológica de Juréia-Itatins**. *Revista Brasil. Bot.*, Rio Claro, v.27, n.2, p.205-211, 2004.

SADLER, M. **Nutritional properties of edible fungi**. *British Nutritional Foundation Nutrition Bulletin*, v.28, p.305-308, 2003.

SAINI, J.K.; PATEL, A.K.; ADSUL, M.; SINGHANIA, R.R. **Cellulase adsorption on lignin: A roadblock for economic hydrolysis of biomass**. *Renewable Energy*, Abril, 2016.

SAINI, J.K.; SAINI, R.; TEWARI, L. **Lignocellulosic agriculture wastes as biomass feedstocks for second-generation bioethanol production: concepts and recent developments.** *3 Biotech*, v. 5:4, p.337-353, 2015.

SHARMA, R.K.; ARORA, D.S. **Fungal degradation of lignocellulosic residues: An aspect of improved nutritive quality.** *Critical Reviews in Microbiology*, v. 41:1, p.52-60, 2015.

SCHUCHARDT, U.; RIBEIRO, M.L.; GONÇALVES, A.R. **A indústria petroquímica no próximo século: como substituir o petróleo como matéria prima?** *Química Nova*, v.24, n.2, p.247-251, 2001.

SHEN, Q.; LIU, P.; WANG, X.; ROYSE, D. J. **Effects of substrate moisture content, log weight and filter porosity on shiitake (*Lentinula edodes*) yield.** *Bioresource Technology*, v.99:17, p.8212-8216, 2008.

SILVA, D.F. **SELEÇÃO DE MICRORGANISMOS CELULOLÍTICOS, IMOBILIZAÇÃO E APLICAÇÃO DAS CELULASES, PRODUZIDAS E COMERCIAL, NA HIDRÓLISE DA CELULOSE.** *Dissertação (Mestrado em Microbiologia Aplicada), Universidade Estadual Paulista, UNESP, Rio Claro, 2012.*

SILVA, D.F.; CAMARGO, R.; CARVALHO, A. F. A.; O-NETO, P. **Cellulolytic enzyme production by the fungi *Trichoderma reesei* QM 9414 and *Trichoderma reesei* CCT2769 using citrus pulp; In: VI Simp. Microb. Appl., 2013.**

SILVA, D.F.; HERGESEL, L.M.; SHINYA, T.Y.; CORREA, F.F.B.; CARVALHO, A.F.A.; OLIVA-NETO, P. **Production of enzyme complexes using cellulolytic filamentous fungi in different culture media.** *Sodebras*, v.11:123, p.75-78, 2016.

SILVA, E.M.; MACHUCA, A.; MILAGRES, A.M.F. **Evaluating the growth and enzyme production from *Lentinula edodes* strains.** *Process Biochemistry*, v.40, p.161-164, 2005.

SINGHA, J.; SUHAGB, M.; DHAKAC, A. **Augmented digestion of lignocellulose by steam explosion, acid and alkaline pretreatment methods: A review.** *Carbohydrate Polymers*, v.117:6, 624-631, 2015.

SLUITER, A.; HAMES, B.; RUIZ, R.; SCARLATA, J.S.; TEMPLETON, D.; CROCKER, D. **Determination of structural carbohydrates and lignina in biomass.** *Technical Report*, 2010.

SMITH, D.C.; BHAT, K.M.; WOOD, T.M. **Xylan-hydrolysing enzymes from thermophilic and mesophilic fungi.** *World J. Microbiol. Biotechnol.*, v.7:4, p.475-484, 1991.

SOCCOL, C.R. & FAN, L. **Desenvolvimento de bioprocessos para produção de fungos comestíveis do tipo *Pleurotus*, *Lentinus*, *Flammulina* a partir dos resíduos da agroindústria do café no Brasil**. In: *INTERNACIONAL SYMPOSIUM ON MUSHROOMS IN FOOD, HEALTH, TECHNOLOGY AND THE ENVIRONMENT IN BRAZIL*, Brasília. Proceedings. Brasília: EMBRAPA – Recursos Genéticos, 2003. p. 79-80, 2003.

SONI, R.; NAZIR, A.; CHADHA, B.S. **Optimization of cellulase production by a versatile *Aspergillus fumigatus* fresenius strain (AMA) capable of efficient deinking and enzymatic hydrolysis of Solkafloc and bagasse**. *Ind. Crop. Prod.*, v.31:2, 2010.

SOUZA, H.Q. & AGUIAR, I.J.A. **Diversidade de Agaricales (Basidiomycota) na Reserva Biológica Walter Egler, Amazonas, Brasil**. *Acta Amazônica*, v.34, p.43-51, 2004.

SUGUIMOTO, H. H.; BARBOSA, A. M.; DEKKER, F. H.; GOMES, J. H. C. **Veratryl alcohol stimulates fruiting body formation in the oyster mushroom, *Pleurotus ostreatus***. *FEMS Microbiology Letters*, v.194, p.235-238, 2001.

SUN, H., GE, X., HAO, Z., PENG, M. **Cellulase production by *Trichoderma* sp. on apple pomace under solid state fermentation**. *Afr. J. Biotechnol.*, v.9:2, p.163-166, 2010.

SUN, Y. & CHENG, J. **Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review**. *Bioresour. Technol.*, v.83, 1-11, 2002.

SZKLARZ, G.; ANTIBUS, R.K.; SINSABAUGH, R.L.; LINKINS, A.E. **Production of phenoloxidases and peroxidases by wood-rotting fungi**. *Mycologia*, Lancaster, v.81, p.234-240, 1989.

TAJ AWAN, A. **Bagaço de laranja como biomassa para a produção de etanol-2G**. 2013. Publicação Jornal da Unicamp – Instituto de Química (IQ).

TAMANINI, C. & HAULY, M.C.O. **Resíduos agroindustriais para a produção biotecnológica de xilitol**. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v.25, n.4, p.315-330, 2004.

TANAKA, T.; TANIGUCHI, M.A.; MATSUMO, R.; KAMIKUBO, T. **Purification and properties of cellulases from *Eupenicillium javanicum***. *J. Fermen. Technol.*, v.59:3, p.177-183, 1981.

TANGNU, S.K.; BLANCH, H.W.; WILKE, C.R. **Enhanced production of cellulase, hemicellulase and β -glucosidase by *Trichoderma reesei* (RUT C-30)**. *Biotechnol. Bioeng.*, v.23, p.1837-1849, 1981.

TANNER, D.R.; LAMBERT, W.D.; DU, L.; MA, Y.; LOHA, V.; BURAPATANA, V.; PROKOP, A.; PAMMENT, N.B. **The effect of pH on the**

foam fractionation of β -glucosidase and cellulase. *Bioresource Technology*, v.87, p.247-253, 2002.

TECHAPUN, C.; POOSARAN, N.; WATANABE, M.; SASAKI, K. **Thermostable and alkaline-tolerant microbial cellulase-free xylanases produced from agricultural wastes and the properties required for use in pulp bleaching bioprocesses: a review.** *Process. Biochem.*, v.38:9, p.1327-1340, 2003.

Technical Association of the pulp and paper industry. **TAPPI T-257 om-02. Sampling and preparation wood for analysis**, in *Tappi Test Methods*. Atlanta, GA.

TEIXEIRA, D. E.; da COSTA, A. F.; SANTANA, M. E. **Aglomerado de bagaço de canadeaçúcar: resistência natural ao ataque de fungos apodrecedores.** *Scientia Forestalis*, v.52, p.29-34, 1997.

THYGESEN, A.; THOMSEN, A.B.; SCHMIDT, A.S.; JORGENSEN, H., AHRING, B.K.; OLSSON, L. **Production of cellulose and hemicellulose-degrading enzymes by filamentous fungi cultivated on wet oxidized wheat straw.** *Enzy. Microb. Technol.*, v.32:5, p.606-661, 2003.

TISDALE, T.E.; MIYASAKA, S.C.; HEMMES, D.E. **Cultivation of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) on wood substrates in Hawaii.** *World J. Microbiol. Biotechnol.*, v.22, p.201-206, 2006.

TONINI, R.C.G.; SANTOS, F.; ISHIKAWA, N.K. ; TAVARES, L.B.B. **Utilização de bainha mediana de palmito (*Euterpe edulis*) Mart. Arecaceae como substrato de frutificação para o cultivo axênico de *Lentinula edodes* (Beck.) Pegler.** *Revista Brasileira de Biociências*, v.5, p. 04-206, 2007.

TORTORA, G.J.; FUNKE, B.R.; CASE, C.L. **Microbiologia.** 8ª Edição, reimpressão. *Artmed Editora*, 894 pp., 2008.

TROCHA, L.K.; RUDY, E.; CHEN, W.; DABERT, M.; EISSENSTAT, D.M. **Linking the respiration of fungal sporocarps with their nitrogen concentration: variation among species, tissues and guilds.** *Functional Ecology*, Julho, 2016.

TRUDEAU, D.L.; LEE, T.M.; ARNOLD, F.H. **Engineered thermostable fungal cellulases exhibit efficient synergistic cellulose hydrolysis at elevated temperatures.** *Biotech. Bioeng.*, v.111:12, 2014.

UENOJO, M. & PASTORE, M.G. **Pectinases: aplicações industriais e perspectivas.** *Quim. Nova*, v.30 (2), p.388-394. 2007.

UNTERSEHER, M. & TAL, O. **Influence of Small Scale Conditions on the Diversity of Wood Decay Fungi in a Temperate, Mixed Deciduous Forest Canopy.** *Mycological Research*, v.110, n.2, p.169-178, 2006.

UPADHYAY, R.C. & VIJAY, B. **Cultivation of Pleurotus species during winter in India.** *Em Maher MJ (Ed.) Science and Cultivation of Edible Fungi.* Balkema. Rotterdam, Holandia. p.533-536, 1991.

VALIK, L.; PIECKOVA, E. **Growth modeling of heat resistant fungi: the effect of water activity.** *International Journal of Food Microbiology*, v.63:1, p.11-17, 2001.

VAN DYK, J.S.; PLETSCHEKE, B.I. **A review of lignocellulose bioconversion using enzymatic hydrolysis and synergistic cooperation between enzymes – factors affecting enzymes, conversion, and synergy.** *Biotechnol. Adv.*, v.30:6, p.1458-1480, 2012.

VERVERIS, C.; GEORGHIOU, K.; DANIELIDIS, D.; HATZINIKOLAOU, D.G.; SANTAS, P.; SANTAS, R.; CORLETI, V. **Cellulose, hemicelluloses, lignin and ash content of some organic materials and their suitability for use as paper pulp supplements.** *Bioresour. Techn.*, v.98, p.296-301, 2007.

VIEIRA, G.R.T.; LIEBL, M.; TAVARES, L. B. B.; PAULERT, R ; SMÂNIA JR, A . **Submerged culture conditions for the production of mycelial biomass and antimicrobial metabolites by *Polyporus tricholoma* Mont.** *Brazilian Journal of Microbiology*, v.39, p.561-568, 2008.

VIKINESWARY, S.; NOORLIDAH, A.; RENUVATHANI, M.; SEKARAN, M.; PANDEY, A.; JONES, E.B.G. **Productivity of laccase in solid substrate fermentation of selected agro-residues by *Pycnoporus sanguineus*.** *Bioresource Technology*, v.97, p.171-177, 2005.

VILELA, D. **Utilização do capim elefante na forma de forragem conservada.** In: *SIMPÓSIO SOBRE CAPIM ELEFANTE, 1990, Coronel Pacheco, MG. Anais.* Juiz de Fora, MG: EMBRAPA-CNPGL, p.89-131, 1990.

VILELA, H. **Produção de briquetes de capim elefante.** Portal Agronomia. 2009.

VINIEGRA-GONZALEZ, G. **Solid state fermentation: definition, characteristics, limitation and monitoring.** In: ROUSSOUS, S. et al. (Eds.) **Advances in solid-state fermentation.** Dordrecht: kluwer Academic Publishers, p.5-22, 1997.

VOGEL, F. & SALMONES, D. **Análisis comparativo de la productividad de cepas de *Pleurotus* spp. Cultivadas en una planta comercial.** *Rev. Iberoam. Micol.*, v.17, p.138-141, 2000.

WANG, D.; SAKODA, A.; SUZUKI, M. **Biological efficiency and nutritional value of *Pleurotus ostreatus* cultivated on spent beer grain.** *Bioresource Technology*, v.78, p.293-300, 2001.

WEN, Z.; LIAO, W.; CHEN, S. **Production of cellulase by *Trichoderma reesei* from dairy manure.** *Bioresource Technology*, v.96, p.491-499, 2005.

WIDSTEN, P. & KANDELBAUER, A. **Laccase applications in the forest products industry: A review.** *Enzyme Microb. Technol.*, v.42, p.293-307, 2008.

YANG, R.; XU, S.; WANG, Z.; YANG, W. **Aqueous extraction of corncob xylan and production of xylooligosaccharides.** *LWT - Food Science Techn.*, v.38, p.677-682, 2005.

YILDIZ, A.; KARAKAPLAN, M.; AYDIN, F. **Studies on *Pleurotus ostreatus* (Jacq. ex Fr.) Kum. Var. *salignus* (Pers. ex Fr.) Konr. Et Maubl.: cultivation, proximate composition, organic and mineral composition of carpophores.** *Food Chemistry*, v.61, p.127-130, 1997.

YILDIZ, S.; YILDIZ, Ü.C.; GEZER, E.D.; TEMİZ, A. **Some lignocellulosic waste used as raw material in cultivation of the *Pleurotus ostreatus* culture mushroom.** *Proc. Biochem.*, v.38, p.30, 2002.

YAOA, S.; NIEA, S.; YUANA, Y.; WANGA, S.; QINA, C. **Efficient extraction of bagasse hemicelluloses and characterization of solid remainder.** *Bioresource Technology*, v.185, p.21-27, 2015.

YOON, Y.K.Y.; WOODAMS, E.E.; HANG, Y.D. **Enzymatic production of pentoses from hemicellulosies fraction of corn residues.** *LWT - Food Science and Technology*, v.39:4, p.388- 392, 2006.

ZANCAN, L.R.; BARRETO, A.R.; MENEZES, C.R. **Estudo da produção enzimática fúngica por basidiomicetos cultivados em resíduos lignocelulósicos.** *Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental*, v.19, p.850-860, 2015.

ZHANG, M.; SU, R.; QI, W.; HE, Z. **Enhanced enzymatic hydrolysis of lignocellulose by optimizing enzyme complexes.** *Applied Biochemistry Biotechnology*, v.160, p.1407–1414, 2010.

ZHANG, P.H.Y.; HIMMEL, M.E.; MIELENZ, J.R. **Outlook for cellulose improvement: Screening and selection strategies".** *Biotechnology Advances*, v.24, p.452-481, 2006.

ZHU, Y.; KM, T.H.; LEE, Y.Y.; CHEN, R. **Enzymatic production of xylo-oligosaccharides from corn stover and corn cobs treated with aqueous ammonia.** *Applied Biochemistry Biotechnology*, v.129-132, p.586-598, 2006.