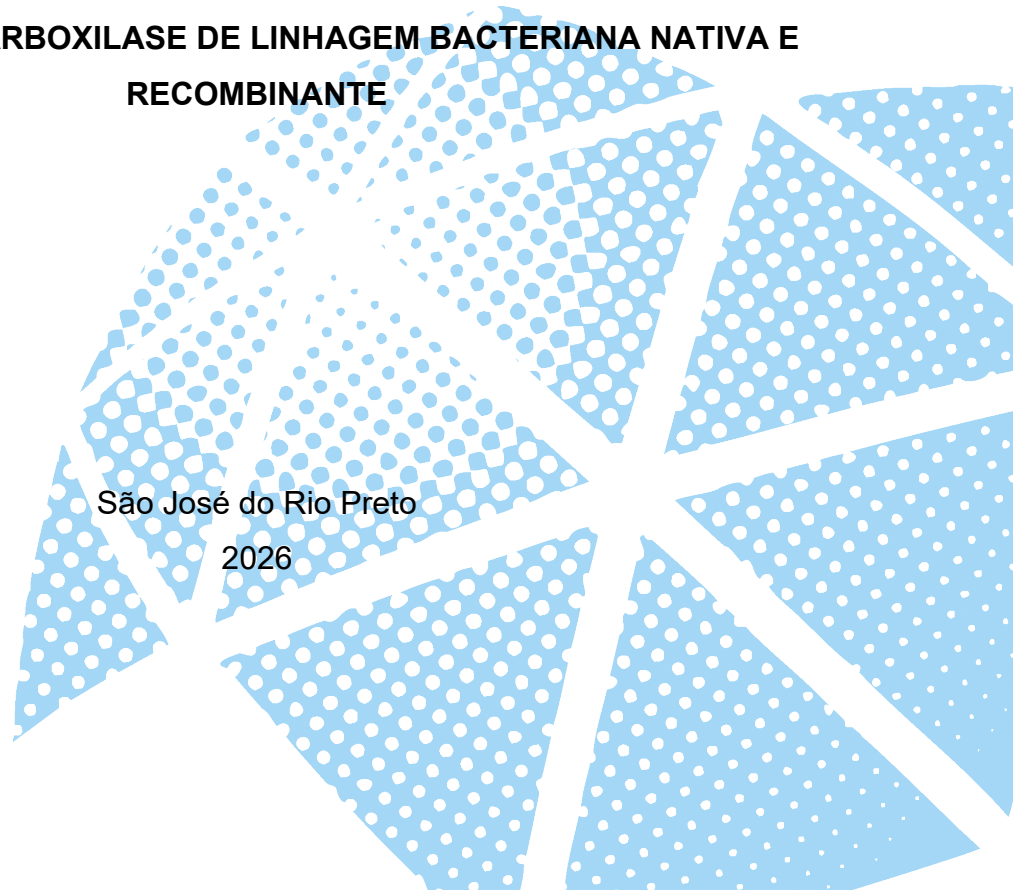
RESSALVA

Atendendo solicitação do autor,
o texto completo desta tese será
disponibilizado somente a partir
de 26/06/2028

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
Ibilce/UNESP - Campus de São José do Rio Preto

ÉRIKE JHONNATHAN PEREIRA

EXPRESSÃO, PURIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA ENZIMA ÁCIDO FENÓLICO DESCARBOXILASE DE LINHAGEM BACTERIANA NATIVA E RECOMBINANTE



São José do Rio Preto
2026

ÉRIKE JHONNATHAN PEREIRA

EXPRESSÃO, PURIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA ENZIMA ÁCIDO FENÓLICO DESCARBOXILASE DE LINHAGEM BACTERIANA NATIVA E RECOMBINANTE

Tese apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Ibilce - Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas - Câmpus de São José do Rio Preto - Unesp, São José do Rio Preto, para obtenção do título de Doutor em Microbiologia.

Orientadora: Profa. Dra. Eleni Gomes

Prof. Dr. Icaro Putinhon Caruso

Dra. Maitê Bernardo Correia dos Santos

São José do Rio Preto

2026

P436e

Pereira, Érike Jhonnathan

EXPRESSÃO, PURIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA ENZIMA ÁCIDO FENÓLICO DESCARBOXILASE DE LINHAGEM BACTERIANA NATIVA E RECOMBINANTE / Érike Jhonnathan Pereira. -- São José do Rio Preto, 2026

140 p. : il., tabs., fotos

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto

Orientadora: Eleni Gomes

Coorientador: Icaro Putinhon Caruso

1. Microbiologia aplicada. 2. Biomassa vegetal. 3. Lignina. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Dados fornecidos pelo autor(a).

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

A pesquisa contribui para a valorização sustentável de resíduos agroindustriais, como bagaço de cana e palha de milho, visando à produção biotecnológica de compostos de alto valor agregado. Promove inovação, bioeconomia, desenvolvimento sustentável e geração de conhecimento científico e tecnológico.

POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

This research contributes to the sustainable valorization of agro-industrial residues, such as sugarcane bagasse and corn stover, for the biotechnological production of high-value-added compounds. It promotes innovation, the bioeconomy, sustainable development, and the generation of scientific and technological knowledge.

ÉRIKE JHONNATHAN PEREIRA

EXPRESSÃO, PURIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA ENZIMA ÁCIDO FENÓLICO DESCARBOXILASE DE LINHAGEM BACTERIANA NATIVA E RECOMBINANTE

Tese apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Ibilce - Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas - Câmpus de São José do Rio Preto - Unesp, São José do Rio Preto, para obtenção do título de Doutor em Microbiologia.

Data da defesa: 26/06/2026

Banca Examinadora:

Profa. Dra. Eleni Gomes
UNESP – Câmpus de São José do Rio Preto
Orientadora

Prof. Dr. Eduardo da Silva Martins
Universidade do Estado de Minas Gerais - Unidade de Frutal
Membro titular

Dr. Igor Vinicius Ramos Otero
UNESP – Câmpus de Rio Claro
Membro titular

Profa. Dra. Tatiane Lembo
Membro suplente

Prof. Dr. Hamilton Cabral
USP - Câmpus de Ribeirão Preto
Membro suplente

Dr. Roberto Ruller
USP - Câmpus de Ribeirão Preto
Membro suplente

Dedico este trabalho aos meus pais, por sempre me apoiarem em tudo o que faço, aos meus orientadores e aos meus colegas de trabalho, por contribuírem para o desenvolvimento desta tese.

AGRADECIMENTOS

À toda minha família querida, em especial aos meus pais e irmã, que não se ausentaram mesmo nos momentos mais difíceis, sempre me apoiando, independentemente da distância criada pela dedicação nesta etapa da minha vida.

Ao Instituto de Biociência Letras e Ciências Exatas-Ibilce, à Universidade estadual paulista-Unesp e ao programa de Pós-Graduação em Microbiologia.

À minha orientadora Prof.ª Dr.ª Eleni Gomes, pela dedicação nas correções e orientações neste período de aprendizado.

Aos meus coorientadores Prof. Dr. Icaro Putinhon Caruso e a Drª. Maitê Bernardo Correia dos Santos, pela paciência e pelas lições ensinadas, participando de modo definitivo da minha formação.

A todos meus companheiros de pós-graduação que transformaram o longo período de dedicação em algo mais divertido.

O presente trabalho foi realizado com bolsa da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, e suportado pelo apoio financeiro à pesquisa da Fapesp, às quais sou grato.

“As universidades serão o que são suas bibliotecas”
(Gelfand, 1968, p. 19, tradução nossa).

RESUMO

A valorização seletiva da lignina pode resultar na produção de diversos compostos químicos de elevado valor comercial, entre eles os compostos 4-vinílicos. Esse grupo químico possui diversas aplicações, como aditivo para bebidas e alimentos, na produção de perfumes e cosméticos e como matéria-prima para outros produtos biotecnológicos. A obtenção desses compostos pode ser realizada por meio da descarboxilação de ácidos hidroxicinâmicos derivados de fontes vegetais renováveis, entre elas a biomassa lignocelulósica. O presente trabalho teve como objetivo o estudo da enzima ácido fenólico descarboxilase (PAD), produzida por uma linhagem nativa de *Bacillus subtilis* TG 3.48, isolada de solo de canavial, bem como a expressão heteróloga dessa enzima em *Escherichia coli* BL21(DE3), utilizando o plasmídeo pET28a(+)-TEV contendo o gene PAD recombinante de *B. subtilis* TG 3.48. Os resultados comparativos mostraram que as enzimas nativa e heteróloga apresentaram o mesmo perfil de atividade frente às variações de pH e temperatura, bem como a mesma preferência por substrato, seguindo a ordem: ácido ferúlico, ácido *p*-cumárico e ácido cafeico. Estudos realizados com esses substratos sintéticos e com aqueles obtidos por hidrólise alcalina de bagaço de cana-de-açúcar e palha de milho confirmaram a capacidade da enzima de catalisar a conversão dos ácidos ferúlico e *p*-cumárico em 4-vinilguaiacol e 4-vinilfenol. Os resultados indicaram a viabilidade de um processo biológico sustentável para a produção de compostos vinílicos a partir de substratos renováveis.

Palavras–chave: ácidos fenólicos; bioprodutos; compostos aromáticos; estirenos; resíduos agroindustriais.

ABSTRACT

The selective valorization of lignin can lead to the production of several high-value chemical compounds, including 4-vinyl compounds. This class of chemicals has a wide range of applications, such as additives for food and beverages, ingredients in the production of fragrances and cosmetics, and raw materials for the manufacture of other biotechnological products. These compounds can be obtained through the decarboxylation of hydroxycinnamic acids derived from renewable plant sources, including lignocellulosic biomass. The present study aimed to investigate the enzyme phenolic acid decarboxylase (PAD) produced by a native strain of *Bacillus subtilis* TG 3.48, isolated from sugarcane field soil, as well as the heterologous expression of this enzyme in *Escherichia coli* BL21(DE3) using the pET28a(+)-TEV plasmid carrying the recombinant PAD gene from *B. subtilis* TG 3.48. Comparative analyses demonstrated that the native and heterologous enzymes exhibited the same activity profile under different pH and temperature conditions, as well as the same substrate preference, in the following order: ferulic acid, *p*-coumaric acid, and caffeic acid. Experiments performed with these synthetic substrates and with substrates obtained by alkaline hydrolysis of sugarcane bagasse and corn stover confirmed the enzyme's ability to catalyze the conversion of ferulic acid and *p*-coumaric acid into 4-vinylguaiacol and 4-vinylphenol, respectively. The results demonstrated the feasibility of a sustainable biological process for the production of vinyl compounds from renewable feedstocks.

Keywords: phenolic acids; bioproducts; aromatic compounds; styrenes; agro-industrial residues.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Blocos estruturais de formação da parede celular vegetal 17

Figura 2 – Precursores e unidades básicas constituintes da lignina 18

Figura 3 – Diferentes métodos de tratamento para a desconstrução da biomassa lignocelulósica e separação dos seus componentes 20

Figura 4 – Possíveis aplicações da lignina de acordo com a massa molecular 23

Figura 5 – Produção de etanol de 1ª e 2ª gerações na indústria sucroalcooleira 24

Figura 6 – Produção de papel celulósico na indústria de papel/celulose pelo tratamento Kraft 27

Figura 7 – Estrutura do ácido cinâmico 29

Figura 8 – Via fenilpropanoide de biossíntese dos ácidos fenólicos em plantas 31

Figura 9 – Síntese de compostos aromáticos estruturais da lignina na via fenilpropanoide 32

Figura 10 – Esquema do processo de extração alcalina e produção primária 33

Figura 11 – Estruturas dos ácidos hidroxicinâmicos e moléculas relacionadas 34

Figura 12 – Estruturas químicas de derivados de 4-vinilfenóis e suas aplicações potenciais como agentes aromatizantes, bioatividade e monômeros de polímeros 36

Figura 13 – Reação catalisada pela enzima ácido fenólico descarboxilase em diferentes ácidos hidroxicinâmicos e seus respectivos 4-vinílicos derivados 38

Figura 14 – Biossíntese de vários compostos aromáticos derivados do ácido p-cumárico 40

Figura 15 – Gradientes de B dependendo do método de cromatografia reversa usada 63

Figura 16 – Cultivo de *B. subtilis* TG 3.48 em hidrolisado alcalino de bagaço de cana-de-açúcar. Produção de biomassa, consumo de açúcares e variação de pH (A), consumo de ácidos ferúlico e *p*-cumárico e produção de 4-vinilfenol e 4-vinilguaiacol (B). DO600nm, açúcar redutor (mg L^{-1}), pH, ácido *p*-cumárico (mg L^{-1}), 4-vinilfenol (mg L^{-1}), ácido ferúlico (mg L^{-1}), 4-vinilguaiacol (mg L^{-1}). 66

Figura 17 – Curvas de absorbância do ácido *p*-cumárico (A) e do 4-vinilfenol formado (B) no meio de reação enzimática. Cada linha corresponde a um ciclo de 5 minutos ao longo de um período de reação de 90 minutos. λmax para ácido *p*-cumárico de 290nm e para 4-vinilfenol de 260nm. 69

Figura 18 – Comparação dos diferentes métodos analíticos usados no ensaio de atividade enzimática da enzima PAD presente no extrato enzimático bruto intracelular de *B. subtilis* TG 3.48 71

Figura 19 – (A) pH ótimo (□) e estabilidade aos pH's (60 min) (■) da enzima PAD de *B. subtilis* TG 3.48. (B) temperatura ótima (○) e estabilidade as temperaturas (60min) (●) da enzima PAD de *B. subtilis* TG 3.48. A atividade enzimática foi determinada a pH 5,5, 40 °C, com tempo de reação de 30 minutos 73

Figura 20 – Atividade da PAD de *B. subtilis* TG 3.48 em função do tempo de reação, sobre diferentes substratos, reação com extrato enzimático bruto intracelular, tampão MES (0,1 M) pH 5,5, por 30 min, (A) ácido *p*-cumárico, 4-vinilfenol, (B) ácido ferúlico, 4-vinilguaiacol e (C) ácido cafeico e 4-vinilcatecol 75

Figura 21 – Diagrama esquemático do vetor pET-28a-TEV (FastBio Ltda) 88

Figura 22 – Eletroforese em gel de agarose 1,2% a partir da amostra amplificada da PCR e purificada de *B. subilis* TG 3.48, (A) amostra e (B) marcador de peso molecular 96

Figura 23 – Enzima PAD heteróloga purificada, em gel de poliacrilamida SDS-PAGE, sendo (1) Marcador de peso molecular; (2) *flow-through* (fração que não se ligou a resina); (3) 30, (4) 100, (5) 200, (6) 300, (7) 500, (8) 1000 mM 98

Figura 24 – Avaliação do tempo reacional para a enzima PAD heteróloga nas condições de reação pré-determinadas, com mistura reacional composta por 1 µL de enzima (10 nM) e 349 µL de uma solução MES (0,1 M) pH 6,0, acrescido de substratos a 30 µM. (A) ácido *p*-cumárico, 4-vinilfenol, (B) ácido ferúlico, 4-vinilguaiacol, (C) ácido cafeico, 4-vinilcatecol 104

Figura 25 – Efeito do pH sobre a atividade da enzima PAD heteróloga purificada, em mistura reacional composta por 1 µL da solução enzimática pura (10 nM) e 349 µl de tampão MES (0,1 M) pH 6,0, usando os substratos ácido ferúlico (A), ácido *p*-cumárico(B) e ácido cafeico (C) a 30 µM, o parâmetro 100% foi assumido como o maior valor de 4-vinílicos entre as unidades experimentais 106

Figura 26 – Efeito da temperatura sobre a atividade da enzima PAD heteróloga purificada, em mistura reacional composta por 1 µL da solução enzimática pura (10 nM) e 349 µl de tampão MES (0,1 M) pH 6,0, usando os substratos ácido ferúlico, o

parâmetro 100% foi assumido como o maior valor de 4-vinílicos entre as unidades experimentais 107

Figura 27 – Efeito da variação da temperatura na estabilidade da enzima PAD na ausência de substrato. em mistura reacional composta por 1 µL da solução enzimática pura (10 nM) e 349 µl de tampão MES (0,1 M) pH 6,0, o parâmetro 100% foi assumido como uma alíquota que não foi submetida ao processo de estocagem, a temperatura ambiente 25 ± 2 ºC e a 5 ºC por 24 h na ausência do substrato 110

Figura 28 – Biomassas lignocelulósicas, (A) bagaço de cana de açúcar, tamanho de partícula entre 1,4 e 2,8 mm, (B) palha de milho, tamanho de partícula inferior a 1,4 mm 120

Figura 29 – Hidrolisados obtidos por tratamento alcalino da biomassa lignocelulósica, com pH ajustado para 7,0, (A) bagaço de cana-de-açúcar, (B) palha de milho 121

Figura 30 – Cultivo de *E. coli* com PAD recombinante em hidrolisado alcalino de bagaço de cana-de-açúcar. (A) inóculo induzido com IPTG, (B) inóculo sem indução (expressão basal), (C) inóculo induzido com lactose e glicose. DO600nm, ácido *p*-cumárico (mg L^{-1}), 4-vinilfenol (mg L^{-1}), ácido ferúlico (mg L^{-1}), 4-vinilguaiacol (mg L^{-1}). 125

Figura 31 – Cultivo de *E. Coli* com PAD recombinante em hidrolisado alcalino de palha de milho. (A) inóculo induzido com IPTG, (B) inóculo sem indução (expressão basal), (C) inóculo induzido com lactose e glicose, sem IPTG, DO600nm, ácido *p*-cumárico (mg L^{-1}), 4-vinilfenol (mg L^{-1}), ácido ferúlico (mg L^{-1}), 4-vinilguaiacol (mg L^{-1}). 128

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Concentrações de ácido *p*-cumárico, ácido ferúlico, compostos fenólicos totais e açúcares redutores totais no hidrolisado alcalino de bagaço de cana-de-açúcar e no meio de cultura MLM 65

Tabela 2 – Atividade da enzima PAD sobre ácido *p*-cumárico, nos diferentes extratos enzimáticos de *B. subtilis* TG 3.48, tampão MES (0,1 M) pH 5,5, por 30 min 70

Tabela 3 – Atividade da PAD de *B. subtilis* TG 3.48 em diferentes ácidos hidroxicinâmicos como substratos, reação com extrato enzimático bruto intracelular, tampão MES (0,1 M) pH 5,5, por 30 min. 74

Tabela 4 – Oligonucleotídeos utilizados para amplificar o gene da ácido fenólico descarboxilase de *B. subilis* TG 3.48 86

Tabela 5 – Composição do eluente da fase móvel usada para o gradiente na cromatografia de afinidade 91

Tabela 6 – Atividade enzimática da enzima PAD e proteínas totais das frações do processo de purificação 101

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO **13**

2. OBJETIVOS **14**

2.1 GERAIS 14

2.2 ESPECÍFICOS 14

3. POTENCIAL DE APROVEITAMENTO DA BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA COMO MATÉRIA-PRIMA NA BIOCONVERSÃO DE ÁCIDOS HIDROXICINÂMICOS A 4-VINÍLICOS DERIVADOS **15**

4. BIOCONVERSÃO DE ÁCIDOS HIDROXICINÂMICOS EM COMPOSTOS DERIVADOS 4-VINÍLICOS POR ÁCIDO FENÓLICO DESCARBOXILASE NATIVA DE BACILLUS SUBTILIS TG 3.48 ..... **50**

5. EXPRESSÃO, PURIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO ENZIMÁTICA DA ENZIMA PAD DE B. SUBTILIS TG 3.48 EM E. COLI BL21(DE3) RECOMBINANTE **81**

6. BIOCONVERSÃO DE ÁCIDOS HIDROXICINÂMICOS PRESENTES EM HIDROLISADOS DE BIOMASSA VEGETAL AOS DERIVADOS 4-VINÍLICOS USANDO ENZIMA PAD HETEROLOGA DE B. SUBTILIS EXPRESSA EM E. COLI BL21(DE3) **115**

7. CONCLUSÃO **137**

REFERÊNCIAS **138**

1. INTRODUÇÃO

O agronegócio é a principal atividade econômica do Brasil e gera, por meio da agricultura e da agroindústria, grande quantidade de resíduos e coprodutos passíveis de aproveitamento em processos biotecnológicos sustentáveis. O bagaço e a palha de cana-de-açúcar, bem como o colmo, o sabugo e a palha de milho, são exemplos desses materiais. Embora os resíduos da cana-de-açúcar sejam utilizados nas usinas para geração de energia, ainda existe um excedente que pode ser aproveitado em bioprocessos. Por outro lado, os resíduos provenientes da cultura do milho ainda requerem alternativas de aproveitamento (CGEE, 2010).

O material lignocelulósico tem sido amplamente estudado devido à sua fração glicídica, composta por celulose e hemicelulose, visando à obtenção de açúcares fermentescíveis. Entretanto, a lignina, por ser constituída por compostos aromáticos e apresentar uma estrutura recalcitrante ao ataque biológico, ainda requer estudos para o melhor entendimento das vias de desconstrução biológica desse polímero e para a identificação de derivados com potencial de aplicação.

Gramíneas de clima quente, como a cana-de-açúcar e o milho, apresentam concentrações consideráveis de ácido *p*-cumárico e ácido ferúlico na parede celular. Esses compostos encontram-se ligados aos arabinoxilanos das paredes celulares primária e secundária por ligações éster ou à lignina por ligações éter, formando uma ponte estrutural entre os carboidratos e a lignina (Biancheti *et al.*, 2026).

Durante os processos químicos de desconstrução da biomassa lignocelulósica para obtenção de açúcares fermentescíveis, os ácidos fenólicos são liberados juntamente com a lignina, possibilitando uma aplicação diferenciada para o resíduo líquido gerado, muitas vezes considerado apenas um poluente. Esses ácidos fenólicos constituem importantes precursores para processos de bioconversão por microrganismos e/ou suas enzimas, possibilitando a produção de compostos de alto valor agregado, como 4-vinilfenol e 4-vinilguaiacol, respectivamente (Santos *et al.*, 2021).

Resultados preliminares obtidos pelo grupo de pesquisa do Laboratório de Bioquímica e Microbiologia Aplicada demonstraram a capacidade da bactéria *Bacillus subtilis* TG 3.48 de realizar a descarboxilação enzimática do ácido *p*-cumárico em 4-vinilfenol. Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo a produção dessa enzima, tanto em sua forma nativa quanto heteróloga, para aplicação na descarboxilação de ácidos fenólicos, ampliando as possibilidades de aproveitamento da biomassa vegetal.

7. CONCLUSÃO

A linhagem de *E. coli* BL21(DE3) contendo o gene PAD heterólogo de *B. subtilis* apresentou tolerância e capacidade de bioconverter os ácidos hidroxicinâmicos, ácido *p*-cumárico e ácido ferúlico, em seus respectivos derivados 4-vinílicos, em diferentes hidrolisados alcalinos obtidos a partir de subprodutos de gramíneas, como bagaço de cana-de-açúcar e palha de milho. Essa capacidade foi observada tanto na ausência de indução quanto sob diferentes estratégias de indução da expressão da enzima heteróloga, representando uma alternativa promissora para a valorização seletiva da lignina proveniente de bioprocessos, como aqueles empregados na indústria de etanol celulósico. A produção biotecnológica de derivados 4-vinílicos representa uma alternativa sustentável às rotas petroquímicas convencionais, estando alinhada ao conceito de biorrefinaria baseada em biomassa vegetal, no qual, além do produto principal, são obtidos coprodutos e compostos químicos de elevado valor agregado a partir do aproveitamento integral da matéria-prima. Um melhor entendimento das condições de cultivo de linhagens recombinantes contendo a enzima PAD heteróloga poderá viabilizar sua aplicação em processos biotecnológicos em escala industrial.

REFERÊNCIAS

AB RASID, Nurul Suhada *et al.* Recent advances in green pre-treatment methods of lignocellulosic biomass for enhanced biofuel production. **Journal of Cleaner Production**, [*s. l.*], vol. 321, nº August, p. 129038, 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.129038.

BERTANI, G. Studies on lysogenesis. I. The mode of phage liberation by lysogenic *Escherichia coli*. **Journal of bacteriology**, [*s. l.*], vol. 62, nº 3, p. 293–300, 1951. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14888646/. Acesso em: 23 set. 2020.

BIANCHETI, Lara Maria *et al.* Phenolic Compounds Derived from Plant Metabolism and Lignin: Biotransformation and Technological Applications. **Waste and Biomass Valorization 2026**, [*s. l.*], p. 1–19, 2026. Disponível em: https://link.springer.com/article/10.1007/s12649-026-03581-4. Acesso em: 21 abr. 2026.

BUSHNELL, L D; HAAS, H F. The Utilization of Certain Hydrocarbons by Microorganisms. **Journal of bacteriology**, [*s. l.*], vol. 41, nº 5, p. 653–73, 1941.

CAVIN, Jean François; DARTOIS, Véronique; DIVIÈS, Charles. Gene Cloning, Transcriptional Analysis, Purification, and Characterization of Phenolic Acid Decarboxylase from *Bacillus subtilis*. [*s. l.*], vol. 10, nº 3, p. 9–13, 1997.

EISENTHAL, Robert.; DANSON, Michael J.. Enzyme assays : a practical approach. [*s. l.*], p. 282, 2002.

FURUYA, Toshiki *et al.* High-yield production of vanillin from ferulic acid by a coenzyme-independent decarboxylase/oxygenase two-stage process. **New Biotechnology**, [*s. l.*], vol. 32, nº 3, p. 335–339, 2015. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.nbt.2015.03.002.

GAURI, Samiran S. *et al.* Biotransformation of *p*-coumaric acid and 2,4-dichlorophenoxy acetic acid by Azotobacter sp. strain SSB81. **Bioresource Technology**, [*s. l.*], vol. 126, p. 350–353, 2012.

JUNG, Da Hye *et al.* Bioconversion of *p*-coumaric acid to *p*-hydroxystyrene using

phenolic acid decarboxylase from *B. amyloliquefaciens* in biphasic reaction system. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [*s. l.*], vol. 97, nº 4, p. 1501–1511, 2013.

LI, Lulu; LONG, Liangkun; DING, Shaojun. Bioproduction of high-concentration 4-vinylguaiacol using whole-cell catalysis harboring an organic solvent-tolerant phenolic acid decarboxylase from *bacillus atrophaeus*. **Frontiers in Microbiology**, [*s. l.*], vol. 10, nº AUG, p. 454478, 2019. Disponível em: www.frontiersin.org. Acesso em: 23 jun. 2024.

LINGER, Jeffrey G. *et al.* Lignin valorization through integrated biological funneling and chemical catalysis. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [*s. l.*], vol. 111, nº 33, p. 12013–12018, 2014.

MATHEW, Sindhu; ABRAHAM, T. Emilia; SUDHEESH, S. Rapid conversion of ferulic acid to 4-vinyl guaiacol and vanillin metabolites by Debaryomyces hansenii. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, [*s. l.*], vol. 44, nº 2, p. 48–52, 2007. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1381117706002645?via%3Dihub. Acesso em: 3 jun. 2026.

RODRIGUEZ, Alberto *et al.* Evaluation of bacterial hosts for conversion of lignin-derived *p*-coumaric acid to 4-vinylphenol. **Microbial Cell Factories 2021 20:1**, [*s. l.*], vol. 20, nº 1, p. 1–10, 2021. Disponível em: https://microbialcellfactories.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12934-021-01670-8. Acesso em: 23 set. 2021.

SALGADO, José Manuel *et al.* Bioproduction of 4-vinylphenol from corn cob alkaline hydrolyzate in two-phase extractive fermentation using free or immobilized recombinant *E. coli* expressing pad gene. **Enzyme and Microbial Technology**, [*s. l.*], vol. 58–59, p. 22–28, 2014.

SALGADO, José Manuel *et al.* Production of vinyl derivatives from alkaline hydrolysates of corn cobs by recombinant *Escherichia coli* containing the phenolic acid decarboxylase from Lactobacillus plantarum CECT 748T. **Bioresource technology**, [*s. l.*], vol. 117, p. 274–285, 2012. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22621808/. Acesso em: 9 nov. 2023.

SARSAIYA, Surendra *et al.* Microbial dynamics for lignocellulosic waste bioconversion and its importance with modern circular economy, challenges and future perspectives. **Bioresource Technology**, [*s. l.*], vol. 291, p. 121905, 2019. Disponível em: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960852419311356. Acesso em: 12 maio 2020.

SONG, Jia xin *et al.* Research progress on vanillin synthesis by catalytic oxidation of lignin: A review. **Industrial Crops and Products**, [*s. l.*], vol. 214, nº March, p. 118443, 2024. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2024.118443.

YANG, Jianzhong *et al.* Bioproduction of lauryl lactone and 4-vinyl guaiacol as value-added chemicals in two-phase biotransformation systems. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [*s. l.*], vol. 84, nº 5, p. 867–876, 2009.

ZHANG, Liying *et al.* Characterization and modification of phenolic acid decarboxylase from marine bacteria for the synthesis of 4-vinyl phenol derivatives. **BMC Microbiology**, [*s. l.*], vol. 26, nº 1, p. 31, 2025. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC12817654/. Acesso em: 12 jul. 2026.

ZHUANG, Xinshu *et al.* Kinetic study of hydrolysis of xylan and agricultural wastes with hot liquid water. **Biotechnology Advances**, [*s. l.*], vol. 27, nº 5, p. 578–582, 2009.