



**INSTITUTO LATINO- AMERICANO DE CIÊNCIAS
DA VIDA E DA NATUREZA
(ILACVN)**

BIOTECNOLOGIA

**ENZIMAS LIGNOCELULOLÍTIICAS E SEU POTENCIAL PARA TRATAMENTO DE
BIOMASSA: UMA REVISÃO**

ANA LETICIA FERNANDES

Foz do Iguaçu
2021



**INSTITUTO LATINO- AMERICANO DE CIÊNCIAS
DA VIDA E DA NATUREZA
(ILACVN)**

BIOTECNOLOGIA

**ENZIMAS LIGNOCELULOLÍTICAS E SEU POTENCIAL PARA TRATAMENTO DE
BIOMASSA: UMA REVISÃO**

ANA LETICIA FERNANDES

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto Latino-Americano de Ciências da vida e da natureza da Universidade Federal da Integração Latino-Americana, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.

Orientadora: Prof. Dra. Caroline da Costa Silva Gonçalves

Foz do Iguaçu
2021

ANA LETICIA FERNANDES

**ENZIMAS LIGNOCELULOLÍTIICAS E SEU POTENCIAL PARA TRATAMENTO DE
BIOMASSA: UMA REVISÃO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto Latino-Americano de Ciências da vida e da natureza da Universidade Federal da Integração Latino-Americana, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dra. Caroline da Costa Silva Gonçalves
UNILA

Prof. Dra. Rafaella Costa Bonugli Santos
UNILA

Prof. Dra. Grazielle de Oliveira Setti Gibin
UNESP

Foz do Iguaçu, 21 de setembro de 2021.

TERMO DE SUBMISSÃO DE TRABALHOS ACADÊMICOS

Nome completo do autor (a): Ana Leticia Fernandes

Curso: Biotecnologia

		Tipo de Documento
(..X..)graduação	(.....)artigo	
(.....)especialização	(..X..)trabalho de conclusão de curso	
(.....)mestrado	(.....)monografia	
(.....)doutorado	(.....)dissertação	
	(.....)tese	
	(.....)CD/DVD–obras áudio visuais	
	(.....)_____	

Título do trabalho acadêmico: Enzimas lignocelulolíticas e seu potencial para tratamento de biomassa: uma revisão

Nome do orientador(a): Caroline da Costa Silva Gonçalves

Data da Defesa: 21 /09/ 2021

Licença não-exclusiva de Distribuição

O referido autor (a):

a) Declara que o documento entregue é seu trabalho original, e que o detém o direito de conceder os direitos contidos nesta licença. Declara também que a entrega do documento não infringe, tanto quanto lhe é possível saber, os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade.

b) Se o documento entregue contém material do qual não detemos direitos de autor, declara que obteve autorização do detentor dos direitos de autor para conceder à UNILA – Universidade Federal da Integração Latino-Americana os direitos requeridos por esta licença, e que esse material cujos direitos são de terceiros está claramente identificado e reconhecido no texto ou conteúdo do documento entregue.

Se o documento entregue é baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não a Universidade Federal da Integração Latino-Americana, declara que cumpriu quaisquer obrigações exigidas pelo respectivo contrato ou acordo.

Na qualidade de titular dos direitos do conteúdo supracitado, o autor autoriza a Biblioteca Latino-Americana–BIUNILA a disponibilizar a obra, gratuitamente e de acordo com a licença pública *Creative Commons Licença3.0Unported*.

Foz do Iguaçu, _____ de _____ de _____.

Assinatura do Responsável

Dedico este trabalho aos que acreditam no poder da educação e lutam por isso diariamente.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço aos meus pais, que são também meus amigos de sempre, não apenas me incentivaram, mas deram o suporte necessário para as minhas escolhas fazendo com que essa graduação fosse possível, agradeço aos meus irmãos pelos cuidados e carinho ao longo da vida e aos meus tios Jair e Adeli que me receberam em Foz e me acompanharam no começo dessa fase.

Agradeço a UNILA como um todo por levar mostrar para novas realidades me fazendo perceber a importância e a riqueza da integração Latino-Americana. Aos meus professores que diariamente constroem o curso de biotecnologia com muita dedicação, também deixo meu muito obrigada e minha admiração.

Minha gratidão a minha querida orientadora Prof Carol que nunca mediu esforços em ajudar, me introduziu ao mundo da pesquisa e me levou ao projeto de extensão permitindo que meus conhecimentos passassem dos muros da universidade para comunidade, como deve ser, assim meu muito obrigada se estende a Prof Grazi, sempre atenciosa, sugerindo pontos importantes para minha didática e a Prof Rafa, por ter me auxiliado no TCC I e por ter coordenado o curso de biotecnologia com tanto empenho.

Aos meus amigos de longa data, aos amigos de outras Universidades que conheci nesse percurso e em especial ao Felipe, Andressa, Giovana, Natalia, Louise, Mateus, Maria Laura, Samuel e Dylon deixo meu muito obrigada por seguir comigo em momentos importantes da graduação, entre estudos, conversa fiada, companheirismo, e também muita festa aproveitamos, chegamos aqui e essa conquista é nossa.

Não poderia passar sem um agradecimento especial ao meu amigo Felipe, boatos que precisamos escolher nossa dupla de laboratório melhor que qualquer coisa, sorte a minha encontrar nossa parceria, não só no laboratório como em tantos outros projetos e além disso para a vida, obrigada até aqui e seguimos juntos.

Agradeço a todos os projetos que participei durante a universidade, meu muito obrigada a LinaBiotec, aos projetos de pesquisa e extensão, ao Colegiado de biotecnologia, a LatinaBiotec Empresa Junior, aos estágios e a todos que participaram dessas etapas comigo.

Por fim agradeço a minha vó Gerusa, que nem sempre entendeu o conceito da biotecnologia (como muitos) mas nunca desacreditou do meu processo, um dia nos encontraremos novamente para vibrar juntas por mais essa.

Soy America Latina um pueblo sin piernas pero
que camina.

FERNANDES, Ana Letícia. **ENZIMAS LIGNINOCELULOLÍTICAS E SEU POTENCIAL PARA TRATAMENTO DE BIOMASSA: UMA REVISÃO**. Trabalho de Conclusão de Curso II (Biotecnologia) – Universidade Federal da Integração Latino-Americana, Foz do Iguaçu, 2021.

RESUMO

As inovações no ramo industrial buscam por alternativas que reduzam seu impacto ambiental e prejuízos causados aos diversos ecossistemas. A utilização de complexos enzimáticos em substituição aos processos tradicionais tem despertado o interesse de pesquisadores devido sua especificidade e ampla aplicação em processos industriais gerando uma cadeia produtiva mais sustentável. O mercado mundial de enzimas mostra um crescimento acelerado e é estimado que alcance em torno de 6,3 bilhões de dólares em 2024. Estes dados apontam um caminho promissor para projetos direcionados à biotecnologia, tanto para a pesquisa em âmbitos acadêmicos como industriais. A aplicação de enzimas para biodegradação de materiais lignocelulósicos também tem ganhado destaque visto que o aproveitamento da biomassa residual vem tornando-se um forte aliado ao desenvolvimento circular. Dessa forma o seguinte trabalho teve como objetivo realizar uma análise do potencial biotecnológico de enzimas lignocelulolíticas para o tratamento de biomassa. Para isso, foi realizado um levantamento de publicações a partir das plataformas *Science Direct* e Portal de Periódicos Capes. Este estudo identificou os métodos de aproveitamento de biomassa assim como técnicas de otimização do processo possibilitando observar as limitações e avanços na área.

Palavras-chave: Enzimas lignocelulolíticas. Sustentabilidade. Processos industriais. Aplicações Biotecnológicas.

FERNANDES, Ana Letícia. **ENZIMAS LIGNINOCELULOLÍTICAS E SEU POTENCIAL PARA TRATAMIENTO DE BIOMASSA: UMA REVISÃO**. Trabalho de Conclusão de Curso II (Biotecnologia) – Universidade Federal da Integração Latino-Americana, Foz do Iguaçu, 2021.

RESUMEN

Las innovaciones en el ámbito industrial buscan alternativas que reduzcan su impacto ambiental y los daños ocasionados a diversos ecosistemas. El uso de complejos enzimáticos en sustitución de procesos tradicionales ha despertado el interés de investigadores por su especificidad y amplia aplicación en procesos industriales, generando una cadena productiva más sostenible. El mercado mundial de enzimas muestra un crecimiento acelerado y se estima que alcanzará los 6.300 millones de dólares en 2024. Estos datos apuntan a un camino prometedor para los proyectos orientados a la biotecnología, tanto para la investigación en el ámbito académico como industrial. La aplicación de enzimas para la biodegradación de materiales lignocelulósicos también ha ganado protagonismo ya que el uso de biomasa residual se ha convertido en un fuerte aliado del desarrollo circular. Así, el siguiente trabajo tuvo como objetivo realizar un análisis del potencial biotecnológico de las enzimas lignocelulolíticas para el tratamiento de biomasa. Para ello, se realizó un relevamiento de publicaciones de las plataformas *Science Direct* y Portal de Periódicos Capes. Este estudio identificó los métodos de uso de la biomasa, así como las técnicas para optimizar el proceso, permitiendo observar las limitaciones y avances en el área.

Palabras clave: Enzimas lignocelulolíticas. Sustentabilidad. Procesos industriales. Aplicaciones biotecnológicas

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Níveis de emissão de GEE, cenário atual e as perspectivas necessárias.....	13
Figura 2 – Comparativo esquemático entre os modelos de produção.....	15
Figura 3 – Estrutura do complexo lignocelulósico.....	16
Figura 4 – Estrutura da celulose.....	18
Figura 5 – Carboidratos que compõem as unidades de hemicelulose.....	19
Figura 6 – Álcoois precursores de lignina.....	19
Figura 7 – Ilustração esquemática da estrutura da pectina.....	20
Figura 8 – Mecanismo de ação de enzimas que atuam na degradação da celulose.....	25
Figura 9 – Esquema da degradação enzimática da hemicelulose.....	26
Figura 10 –Estrutura ilustrativa de diferentes formas de mananas e enzimas requeridas para sua hidrólise.....	27
Figura 11 – Ciclo catalítico da lignina peroxidase.....	28
Figura 12 – Ciclo catalítico da manganês peroxidase.....	29
Figura 13 – Ciclo catalítico da lacase.....	30
Figura 14 – Materiais lignocelulósicos e o tratamento empregado para produção de álcoois.....	35
Figura 15 – Bioconversão de biomassa e produtos gerados após o processo..	42

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	13
2.2 PANORAMA AMBIENTAL E ESFORÇOS PARA O DESENVOLVIMENTO CIRCULAR.....	13
2.2 MATERIAIS LIGNOCELULÓSICOS COMO FONTE DE CARBONO.....	15
2.3 BIODEGRADAÇÃO DE MATERIAIS LIGNOCELULÓSICOS.....	20
2.4 ENZIMAS LIGNOCELULOLÍTICAS.....	23
2.4.1 Celulase.....	24
2.4.2. Xilanase.....	25
2.4.3 Mananase.....	26
2.4.4 Lignina Peroxidase.....	28
2.4.5 Manganês peroxidase.....	28
2.4.6 Lacase.....	29
3.OBJETIVOS	31
3.1 Objetivos gerais	31
3.2 Objetivos específicos	31
4. METODOLOGIA.....	32
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	33
5.1 SELEÇÃO DE BIOMASSA.....	34
5.2 PRÉ-TRATAMENTO DE BIOMASSA.....	36
6. CONCLUSÃO.....	43
7. REFERÊNCIAS.....	44

1. INTRODUÇÃO

O desenvolvimento da sociedade e o crescente aumento populacional tem impactado consideravelmente na demanda por alimentos, energia e produtos industrializados e, conseqüentemente, sobrecarregado as reservas naturais do planeta. A conseqüente elevação dos níveis de emissão de gases de efeito estufa e o aquecimento global contribuem para a busca e desenvolvimento de tecnologias alternativas e sustentáveis, em especial aquelas baseadas em matérias primas renováveis. A biomassa pode ser definida como o material produzido por seres vivos em seus diferentes processos, isto é, a matéria orgânica viva, desde quando fixa energia solar nas moléculas constituintes de suas células, passando por todas as etapas da cadeia alimentar, ou trófica (BRISTOTI *et al.*, 1993). A Biomassa lignocelulósica, que inclui resíduos agrícolas, florestais e algas, desponta como uma alternativa sustentável e renovável para a produção de uma nova geração de produtos, como biocombustíveis, compostos químicos, aditivos de alimentos e enzimas (OKOLIE *et al.*, 2021).

A biomassa lignocelulósica é uma fonte rica de carbono orgânico renovável, sendo viável para a área bioenergética e para o desenvolvimento de novas moléculas de interesse biotecnológico. A maior adversidade para o uso deste material está na sua estrutura recalcitrante de difícil desmonte. O processo de degradação da biomassa lignocelulolítica ocorre por meio de agentes degradadores, que podem ser físicos como, por exemplo, o fogo; químicos como ácidos fortes, bases fortes, óxidos de ferro e enxofre, ou biológicos como fungos, bactérias, cupins e besouros (SUNDARARAJ *et al.*, 2015).

As estruturas químicas presentes nos materiais lignocelulósicos podem ser facilmente degradadas por enzimas microbianas, tornando o material mais acessível para a processos futuros (ISIKGOR; BECER, 2015). Atualmente, os fungos degradadores de celulose têm se destacado devido sua capacidade de ocasionar o desmonte da estrutura biológica de materiais lignocelulósicos. A capacidade de degradação de fungos que causam podridão é correlacionada com a quantidade e tipo de enzimas produzidas (RAYNER; BODDY, 1988).

O mercado mundial de enzimas vem aumentando consideravelmente nos últimos anos, com crescente ampliação do campo de aplicação destas em

processos industriais. Atualmente, as enzimas são empregadas na indústria de alimentos, de bebidas, têxtil, polpa de celulose e papel, agroindústria e no setor de biocombustíveis, com destaque para as enzimas lignocelulósicas (PIMENTEL, 2019). O Brasil apresenta um grande potencial para o desenvolvimento verde, pois conta com uma vasta diversidade ecológica e, conseqüentemente, abriga diferentes microrganismos capazes de produzir complexos enzimáticos de grande interesse e potencial biotecnológico (INCT, 2014).

Neste contexto, o presente trabalho tem como objetivo uma revisão bibliográfica relacionada ao potencial de complexos enzimáticos na degradação de materiais lignocelulósicos, visando sua aplicação na biotecnologia como uma alternativa no desenvolvimento de novos produtos.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

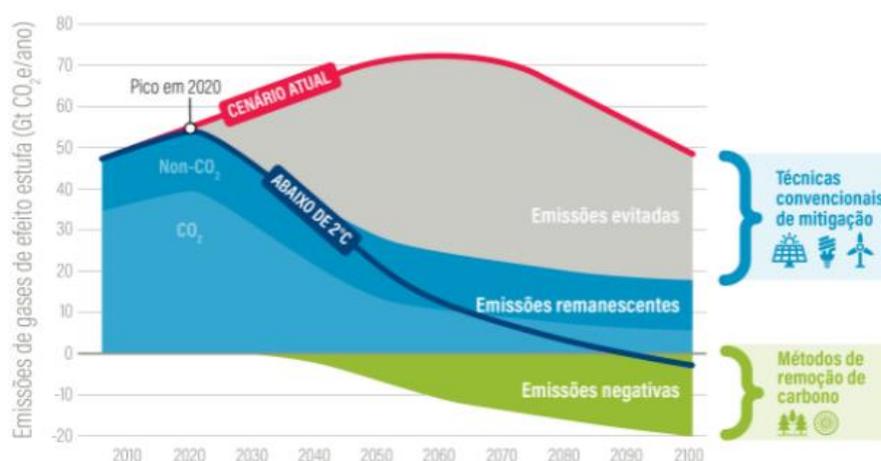
2.1 PANORAMA AMBIENTAL ATUAL E ESFORÇOS PARA O DESENVOLVIMENTO CIRCULAR

O eficiente aproveitamento da biomassa residual, assim como outros esforços voltados ao desenvolvimento circular vem sendo impulsionados pelas metas de redução ou compensação nas emissões de gases de efeito estufa (GEE) (TOLMASQUIM *et al.*, 2005). O agravamento das mudanças climáticas e os impactos socioeconômicos, fizeram com que governos e organizações privadas em todo o planeta iniciassem políticas para a mitigação ou eliminação dos impactos causados pela ação do homem no meio ambiente (CARVALHO, 2019)

O aumento do nível de CO₂ atmosférico e consequente aquecimento global já é evidente, a temperatura da superfície global aumentou 0,8 °C ao longo do século XX e deve aumentar entre 1,4 a 5,8 °C durante o século XXI. A previsão não é de melhora até que as concentrações atmosféricas dos principais gases de efeito estufa sejam estabilizadas, entre eles, CO₂ é o principal responsável e deve responder por cerca de 60% do aquecimento ao longo do próximo século (DHILLON; VON WUEHLISCH 2013).

A implementação de práticas mais sustentáveis é indispensável. Segundo a UNEP (2016), para evitar um aumento na temperatura global superior a 2 graus Celsius até o próximo século é necessário atingir emissões negativas de GEE através da utilização de técnicas de remoção de carbono, como demonstra a figura 1.

Figura 1: Níveis de emissão de GEE, cenário atual e as perspectivas necessárias.



FONTE: Adaptado UNEP, 2016.

Diante deste cenário, metas e políticas associadas à redução de GEE foram delineadas, destaca-se aqui três mecanismos que entraram em vigor no ano de 2005: o Mecanismo de Desenvolvimento Limpo (MDL), a Implementação Conjunta (IC) e o Comércio Internacional de Emissões (CIE) (LIM; LAM, 2014; SEEBERG-ELVERFELDT, 2010). Essas práticas visam incentivos à implementação de projetos que contribuam para a captura e redução de GEE e forneceram a base para a criação de um mercado de carbono, a partir desse mercado temos os chamados “créditos de carbono” (DHILLON; VON WUEHLISCH, 2013)

Cada uma tonelada de carbono que deixa de ser emitida por um país ou empresa na atmosfera equivale a um crédito, denominado, Reduções Certificadas de Emissões (RCE), esses créditos podem ser usados como moeda de troca entre os países que ultrapassaram suas metas de redução e os que não conseguiram cumprir suas metas (SILVEIRA, 2005).

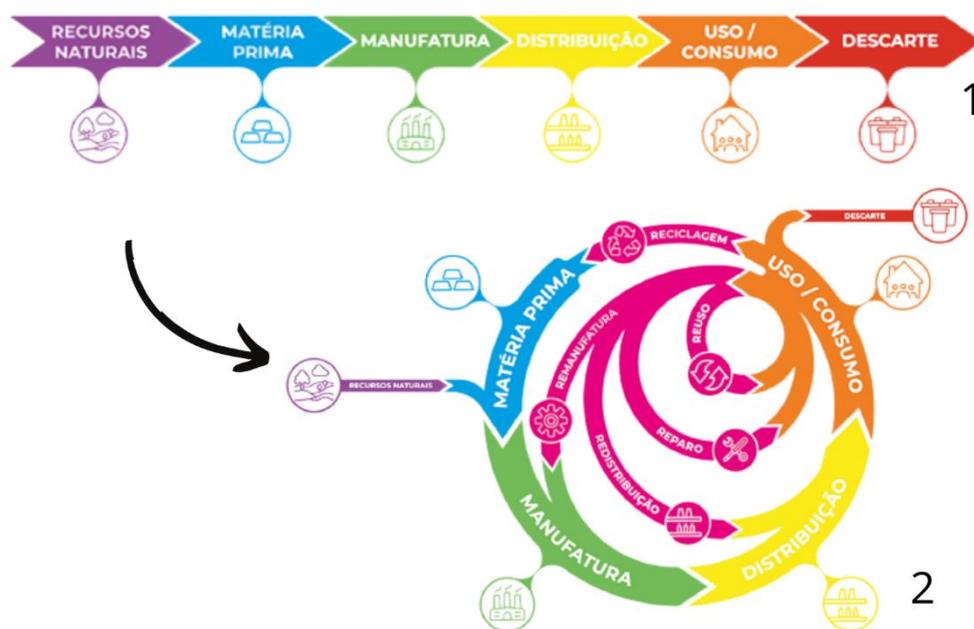
A partir dessa logística, nações com maiores emissões de GEE (em geral mais industrializadas) investem em projetos voltados a redução de emissões de países em desenvolvimento que, por sua vez, se beneficiam economicamente. Esta associação possibilita o desenvolvimento sustentável e auxilia no alcance das metas globais da convenção, gerando uma cadeia de desenvolvimento sustentável (JURGENS; SCHLAMADINGER; GOMEZ, 2006).

Esse modelo econômico gera oportunidades de um desenvolvimento circular até mesmo em áreas comumente conhecidas por gerar emissão de carbono em larga escala, como é o caso do agronegócio. O agronegócio gera uma quantidade significativa de resíduos lignocelulósicos, estes resíduos que eram geralmente descartáveis a partir dessa nova perspectiva são vistos como matéria prima para produção de energia, combustíveis e outros produtos químicos. Dessa maneira, o uso de resíduos torna-se peça importante para o desenvolvimento rural, em especial nos países ainda em desenvolvimento como o Brasil conduzindo pequenos produtores rurais para uma agricultura de baixo carbono (CARVALHO, 2019)

A economia circular apresenta-se como uma alternativa à cadeia linear de produção. A economia linear é baseada em um modelo de produção com pontas desconectadas, onde a matéria prima sempre é proveniente de recursos naturais e o destino final da produção é o descarte, por muito tempo esse modelo de negócio foi estimulado devido a produção acelerada, entretanto essa forma de desenvolvimento já é considerada insustentável a longo prazo quando falamos em

questões socioambientais. Assim o modelo de desenvolvimento circular apresenta um grande diferencial, o descarte originado após o uso/consumo é tratado e pode novamente integrar a cadeia de produção servindo como matéria prima, dessa forma o modelo apresenta vantagens como a redução na poluição proveniente de descarte incorreto, melhor aproveitamento dos materiais e um estímulo a bioeconomia (Ideia circular, c2018). A figura 2 apresenta de forma esquemática as duas formas de desenvolvimento.

Figura 2: Comparativo esquemático entre os modelos de produção



A imagem apresenta em 1. Um modelo de produção linear e em 2. A forma de desenvolvimento de uma cadeia de produção circular. FONTE: Adaptado de Ideia circular, c2018.

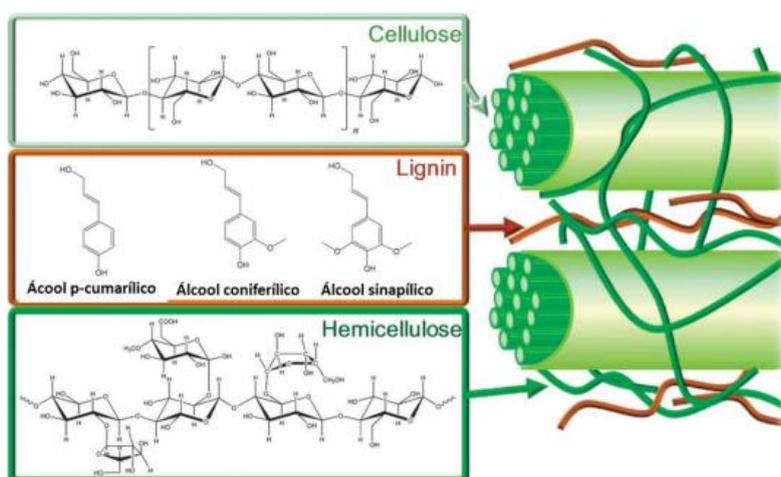
2.2 MATERIAIS LIGNOCELULÓSICOS COMO FONTE DE CARBONO

Resíduos agroindustriais, como dejetos animais e restos vegetais inviáveis para consumo, são fontes ricas de materiais lignocelulósicos que podem ser biodegradados e convertidos em novos materiais. A demanda por produtos agroindustriais cresceu exponencialmente nos últimos anos, aumentando assim os resíduos gerados e consequentemente a necessidade de um manejo mais sustentável (BLEY, 2009).

A estrutura da lignocelulose surgiu através de processos evolutivos que promoveram resistência à ataques mecânicos e químicos de outros organismos,

isso fez com que essa estrutura se tornasse bastante interligada e rígida. (JANUSZ *et al.*, 2017). Os materiais lignocelulósicos representam mais de 90% do peso seco de uma célula vegetal e são compostos principalmente por três moléculas em sua parede celular: celulose, hemiceluloses e lignina (Figura 3). Essas moléculas são mantidas unidas entre si por forças coesivas não covalentes, ligações covalentes e, em menor quantidade, por pectina e alguns extrativos minerais.

Figura 3: Estrutura do complexo lignocelulósico.



FONTE: ALONSO *et al.*, 2012.

A quantidade de cada componente pode variar de acordo com a família, espécie e localização nas plantas (RYTIOJA, J. *et al.*, 2014). Os resíduos lignocelulósicos também apresentam porcentagens variadas de cada composto como destacado na tabela 1.

Tabela 1: Porcentagem de compostos lignocelulósicos em resíduos agrícolas, industriais e urbanos.

Origem	Resíduo	Celulose	Hemicelulose	Lignina	Outros	Referência
Agrícola	Espiga de milho	34.8	34	17	14.2	Eylen <i>et al.</i> (2011)

		49.2	29.2	16.3	4.3	Amini et al. (2014)
	Palha de trigo					
	Palha de arroz	15	25.4	10.6	49	Kumar et al. (2013)
	Bagaço de cana	41.3	27.4	12.1	19.2	Abo-State et al. (2013)
Industrial	Resíduo de papéis	65	15	7.5	12.5	Prasetyo; Park (2013)
	Resíduo de casca de laranja	34.2	10.5	0.8	54.5	Lopez <i>et al.</i> (2010)
	Resíduo de macarrão instantâneo	84	-	-	16	Yang <i>et al.</i> (2014)
	Resíduo de maçã	48.7	-	23.5	27.8	Dhillon <i>et al.</i> (2011)
Urbana	Resíduos de alimentação	63	2	-	15	Kim <i>et al.</i> (2011)
	Gramíneas	25	35	10	30	Prasad <i>et al.</i> (2007)
	Resíduo de podas de árvores	18	8.3	51.1	22.6	Prasetyo; Park (2013)

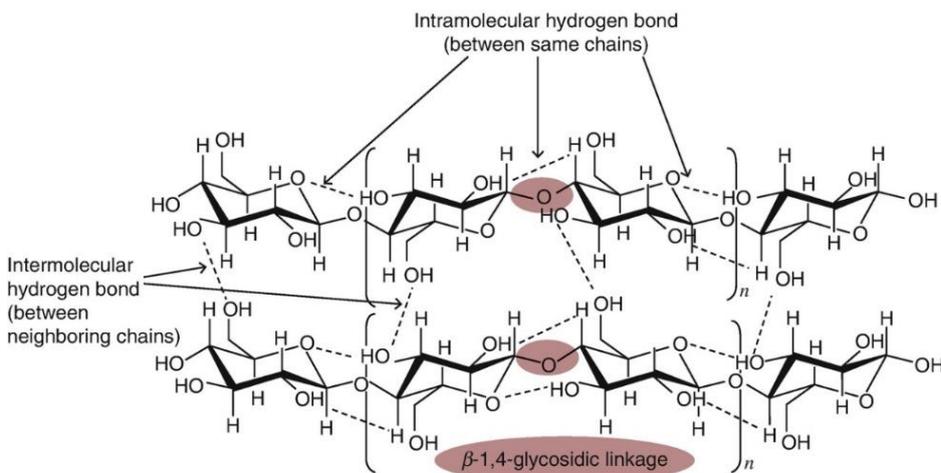
FONTE: adaptado de YANG *et al.*, 2015.

A celulose destaca-se por ser o polímero mais abundante da natureza e também a molécula que apresenta a composição menos complexa da parede celular

vegetal, composta por moléculas de anidroglicose unidas por ligações beta 1,4 glicosídicas formando uma estrutura completamente linear, o dímero repetitivo da celulose é denominado celobiose. Os feixes de celulose se alternam em regiões cristalinas e amorfas formando microfibrilas, o que resulta em um material com alta resistência à tração e baixa solubilidade para a grande maioria de solventes (LINO, 2015).

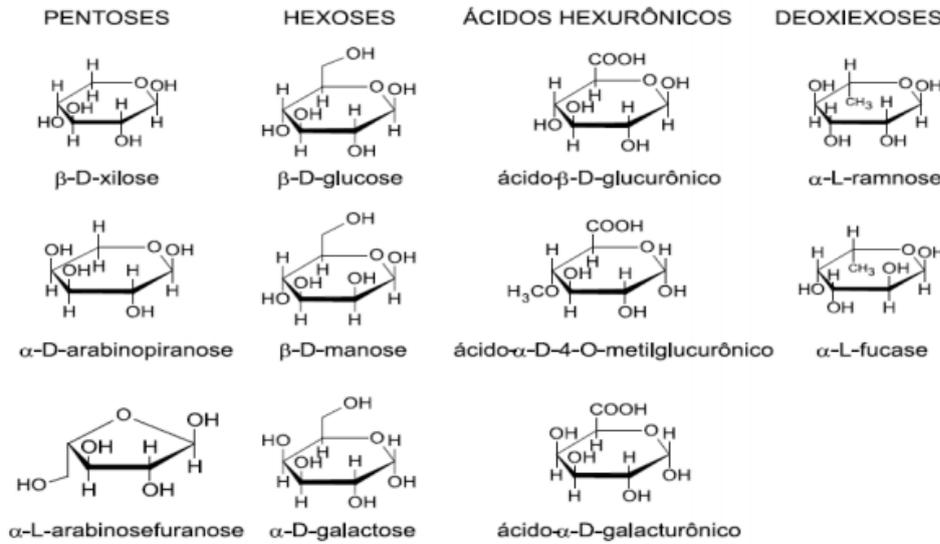
O comportamento físico e químico da celulose pode ser visto, em parte, como consequência dos grupos hidroxilas (OH) presentes na molécula. As unidades de anidroglicose contém três grupos hidroxilas em posições diferentes, logo as macromoléculas de celulose podem formar dois tipos de ligações de hidrogênio distintas sendo estas intermoleculares e intramoleculares (MELO, 2015). A figura 4 traz uma representação estrutural da celulose.

Figura 4: Estrutura da celulose



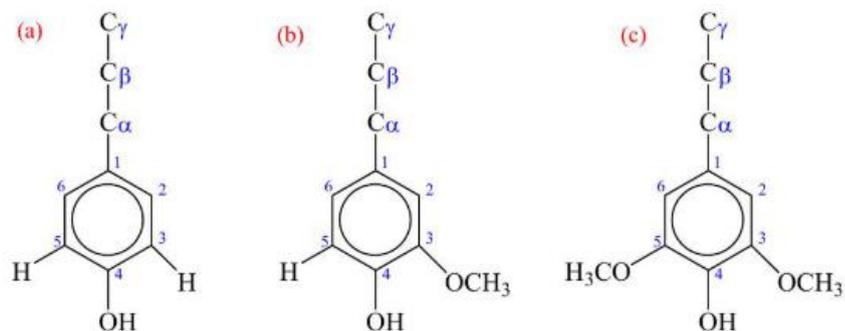
FONTE: CIOLACU, 2018

As hemiceluloses também são denominadas por polioses, compostas por várias unidades de açúcares diferentes, como pentoses, hexoses e até mesmo ácido urônico como mostra a Figura 5 e são classificadas de acordo com o açúcar principal presente (GIRIO et. al., 2010). As hemiceluloses apresentam cadeias ramificadas e menores do que a celulose (LINO, 2015) e são consideradas o segundo tipo de polissacarídeo mais importante dos materiais lignocelulósicos, representando de 15 a 35 % da composição da parede celular (PALMA, 1993).

Figura 5: Carboidratos que compõem as unidades de hemicelulose

Fonte: RODRIGUES; CAMARGO, 2008

A Lignina, o segundo biopolímero mais abundante na natureza, é um polímero aromático amorfo, de estrutura heterogênea e pode conter três tipos de unidades aromáticas sendo estas p-hidroxifenil, guaiacil e siringil, como mostra a figura 6 (MELO, 2015). A lignina é responsável pela proteção da parede celular, inibindo a degradação enzimática de outras moléculas, ou seja é um suporte de resistência a ataques biológicos, exercendo um papel antioxidante e antimicrobiano (FILHO *et al.*, 2008). Esse polímero pode representar 18 a 34% da biomassa seca (AITKEN *et al.*, 1988)

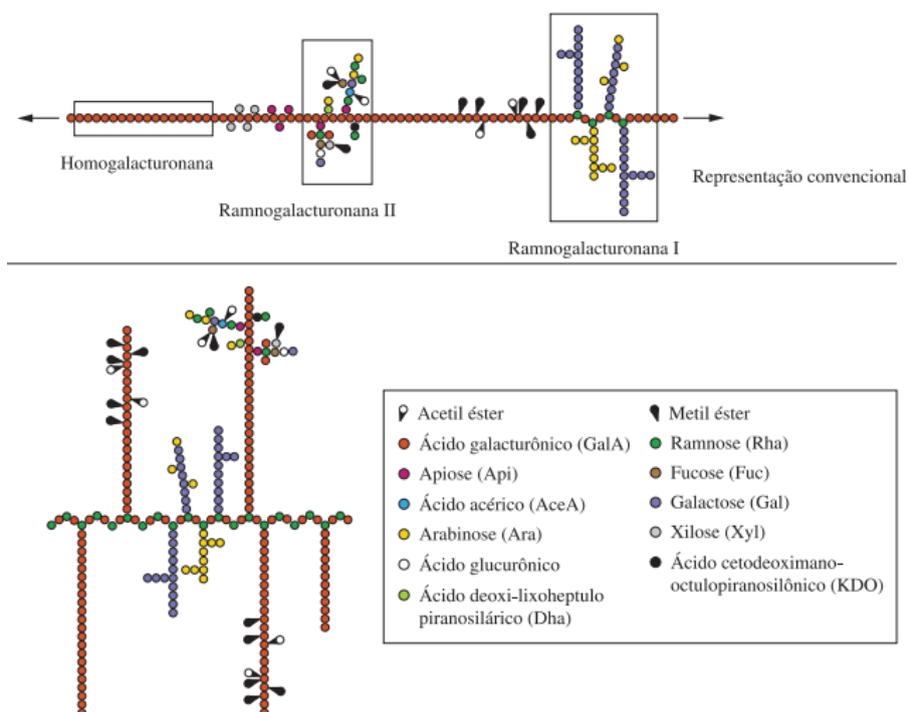
Figura 6: Alcoóis precursores de lignina, (a) para-hidroxifenila, (b) guaiacila e (c) siringila.

FONTE: ALMEIDA, 2009

A pectina está localizada na parede celular de vegetais superiores,

associada a outros componentes, é o polissacarídeo menos presente nas plantas, de grande complexidade estrutural e funcional como mostra a figura 7. Essa molécula é composta principalmente por quatro classes estruturais: homogalacturonana, ramnogalacturonana I, xilogalacturonana e ramnogalacturonana II. A pectina destaca-se por sua função no controle de porosidade da parede, na aderência intercelular além de atuar na defesa vegetal contra ataques químicos e biológicos. (SCHNEIDER, 2009)

Figura 7: Ilustração esquemática da estrutura da pectina.



FONTE: CANTERI et al., 2012

2.3 BIODEGRADAÇÃO DE MATERIAIS LIGNOCELULÓSICOS

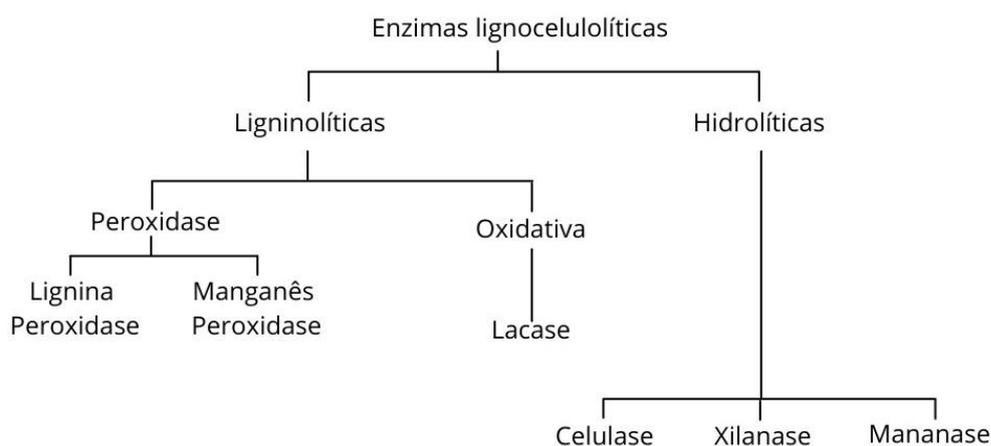
O processo de degradação enzimática de materiais lignocelulolíticos enfrenta alguns obstáculos, relacionados à estrutura recalcitrante, a biomassa é bastante resistente a transformação e difícil de ser desestruturada. A desconstrução de sua estrutura é comumente dificultosa e exige um *pool* de enzimas para que se cumpra de forma efetiva. (MOHANRAM et al. 2013)

Nesse sentido manipulações biológicas na área enzimática são bastante efetivas, viabilizando os processos de bioconversão e produzindo novas moléculas com alto valor agregado, como os ácidos orgânicos, etanol, enzimas e metabólitos secundários biologicamente ativos (ALEXANDRINO et al., 2007).

Os fungos decompositores apresentam-se como os microrganismos mais eficientes no processo de degradação de materiais lignocelulósicos (FENGEL; WEGENER, 1989). A eficiente degradação promovida por fungos está diretamente associada ao sistema enzimático extracelular dos mesmos (SANCHEZ, 2009). Os fungos basidiomicetos, por exemplo, produzem simultaneamente enzimas hidrolíticas e oxidativas, importantes para a conversão dos polímeros da biomassa lignocelulósica em moléculas menores, que são assimiladas e utilizadas como nutrientes. (ARAÚJO; COSTA, 2003). Esse processo de biodegradação é iniciado com a penetração fúngica no lúmen na célula vegetal, o fungo invasor uma vez instalado intensifica a produção de metabólitos, em especial enzimas, a fim de converter a celulose, hemicelulose, lignina e pectina em moléculas menores (KIRK; CULLEN, 1998).

As enzimas comumente encontradas em microrganismos lignocelulolíticos dividem-se em enzimas hidrolíticas e ligninolíticas. As celulases, hemicelulases, pectinases, quitanases, amilases, proteases, estereases e mananases são classificadas como enzimas hidrolíticas, enquanto, peroxidases e oxidases são classificadas como enzimas ligninolíticas (MTUI, 2012). O fluxograma 1 apresenta algumas enzimas lignocelulolíticas utilizadas nos processos de tratamento da biomassa.

Fluxograma 1: Enzimas lignocelulolíticas



FONTE: Adaptado de CHUKWUMA *et al.*, 2020

As enzimas responsáveis pela modificação e degradação dos compostos polissacarídicos das plantas nos últimos anos ganharam uma nova classificação, assim podem ser denominadas também como *CAZymes*, sigla para

Carbohydrate-active Enzymes. As CAZymes são organizadas de acordo com suas sequências de aminoácidos e as enzimas envolvidas na degradação polissacarídica das plantas são classificadas como: hidrolases glicosídicas (GHs), carboidrato esterases (CEs), polissacarídeo liases (PLs), glicosiltransferases (GTs) e de atividade auxiliar (AA) (LOMBARD *et al.* 2014)

Mediadores também podem participar do processo de oxidorredução juntamente com as enzimas lignocelulolíticas, algumas enzimas necessitam de mediadores para realizar sua função, enquanto outras não são dependentes de mediadores, entretanto podem atuar de forma mais efetiva com a presença dos mesmos, estes auxiliam na etapa de colonização e degradação fúngica, tornando o processo mais eficiente quando comparada a outros organismos. Alguns mediadores podem ser produzidos a partir do próprio metabolismo fúngico, como o álcool veratrílico, oxalato, manolato, fumarato e o ácido 3-hidroxiantranílico (Gonzales *et al.* 2002). A tabela 2 apresenta exemplos de mediadores naturais e sintéticos que contribuem para os processos de degradação.

Tabela 2: Exemplos de mediadores sintéticos e naturais relacionados ao organismo.

Mediador	Organismo/ Enzima
Mediadores naturais	
Mn ²⁺	<i>Phanerochaete chrysosporium</i>
Ácidos orgânicos	<i>Armillaria mellea</i> , <i>Fomes annosus</i> , <i>Pleurotus ostreatus</i> , <i>P. chrysosporium</i> , <i>Phlebia radiata</i> , <i>Cenporiopsis subvermispora</i> , <i>Nematoloma frowardii</i> (LiP, MnP)
Ácido veratrílico	<i>Phanerochaete chrysosporium</i> (LiP)
Ácido 3-hidroxiantranílico (3-HAA)	<i>Pycnoporus cinnabarinus</i> (lacase)
2-Cloro-1,4-dimetoxibenzeno (2Cl-1,4DMB)	<i>Trametes versicolor</i> (LiP)
Mediadores sintéticos	
1-Hidroxibenzotriazol (1-HBT)	<i>T. versicolor</i> , <i>T. villosa</i> , <i>P. cinnabarinus</i> , <i>Botrytis cinerea</i> , <i>Myceliophthora thermophila</i> , <i>Corioloopsis gallica</i> , <i>P. ostreatus</i> e outros organismos (lacase)
Ácido violúrico ácido	<i>T. villosa</i> , <i>P. cinnabarinus</i> , <i>B. cinerea</i> , <i>M. thermophila</i> (lacase)
ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazol-6-sulfônico) (ABTS)	<i>T. versicolor</i> , <i>C. gallica</i> , <i>P. ostreatus</i> e outros organismos (lacase)

FONTE: adaptado WESENBERG *et al.*, 2003.

O estudo das enzimas envolvidas na degradação da parede celular vegetal tem sido intenso desde os anos 1950. A degradação desses materiais em açúcares monoméricos é de grande relevância, já que estes podem ser utilizados como matérias-primas em inúmeros processos biotecnológicos como na produção do etanol de segunda geração, altamente visado nos últimos anos (LAWFORD; ROUSSEAU, 2003).

2.4 ENZIMAS LIGNINOCELULOLÍTICAS NA BIODEGRADAÇÃO

As enzimas lignocelulolíticas estão entre os grupos de enzimas comerciais com maior geração de lucros, crescimento associado à ampla aplicabilidade e alta eficiência enzimática para a conversão de biomassa. (KUHAD et al., 2011). As enzimas lignocelulolíticas se destacam em relação a outros grupos enzimáticos devido à complexidade de sua composição, abrangendo diversas enzimas e mecanismos, como representado na tabela 3 e elucidado a seguir (LIU et al., 2013).

Tabela 3: Algumas enzimas fungicas envolvidas na degradação da lignocelulose

Enzima	Código da Enzima	Família CAZy ^a	Substrato ^b	Produto ^b
Celobiohidrolase	EC 3.2.1.91	GH6,7	Celulose	Celobiose
Endo- β -1,4-glicanase	EC 3.2.1.4	GH5,7,12,45	Celulose	Celodextrina, glicose
β -glicosidase	EC 3.2.1.21	GH1,3	Celodextrinas	Glicose
Celulose monooxigenase	-	- ^c	Celulose	Celodextrina oxidada
Celobiose monooxigenase	EC 1.1.99.18	-	Celobiose	Celobiono-1,5-lactona
Expansina	-	-	Celulose	Celulose rompida
Endo- β -1,4-xilanase	EC 3.2.1.8	GH10,11,30	Xilana	Xilo-OS, xilose
β -xilosidase	EC 3.2.1.37	GH3,30,43	Xilo-OS	Xilose
Exo-1,5- α -L-arabinase	EC 3.2.1.-	GH43,93	Arabinana	Arabino-OS, arabinose
Endo-1,5- α -L-arabinase	EC 3.2.1.99	GH43	Arabinana	Arabino-OS, arabinose
α -L-arabinofuranosidase	EC 3.2.1.55	GH3,43,51,54,62	Arabinana, arabino-OS, arabinoxilana	Arabinose
Endo-1,4-manase	EC 3.2.1.78	GH5,26	Manana	Mano-OS
β -manosidase	EC 3.2.1.25	GH2	Mano-OS	Manose
Endo- β -1,4-galactanase	EC 3.2.1.89	GH53	Galactana	Galacto-OS, galactose
β -galactosidase	EC 3.2.1.23	GH2,35	Galactana, xiloglicana	Galactose
α -galactosidase	EC 3.2.1.22	GH27,36	Galactomanana	Galactose
Xiloglicanase	EC 3.2.1.151	GH12,74	Xiloglicana	Xiloglicana-OS
Oligoxiloglucano reducing end- celobiohidrolase específica	EC 3.2.1.150	GH74	Xiloglicana OS	Celobiose (com ou sem substituição de xilosil)
Endo-1,3-1,4-glicanase	EC 3.2.1.6 EC 3.2.1.73	GH12,16	β -(1 \rightarrow 3, 1 \rightarrow 4)-glicana	Glico-OS
α -L-fucosidase	EC 3.2.1.63 EC 3.2.1.51	GH29,95	Xiloglicana	Fucose
α -glicoronidase	EC 3.2.1.139 EC 3.2.1.131	GH67	Glicuronoxilana	Ácido 4-O-metil glicurônico
Acetilxilana esterase	EC 3.1.1.72	CE1,2,3,5,12	Xilana	Ácido acético
Feruloil esterase	EC 3.1.1.73	CE1	Xilana, arabinana, xiloglicana	Ácidos hidroxicinâmicos (ex: ácidos cafeico, ferúlico e p-cumárico)
Glicuronoil esterase	EC 3.1.1.-	CE15	Xilana	Ácido 4-O-metil glicurônico
Lacase	EC 3.1.10.3.2	-	Lignina	Radicais aromáticos
Lignina peroxidase	EC 3.1.11.1.14	-	Lignina	Radicais aromáticos
Manganês peroxidase	EC 3.1.11.1.13	-	Lignina	Radicais aromáticos
Versátil peroxidase	EC 3.1.11.1.16	-	Lignina	Radicais aromáticos

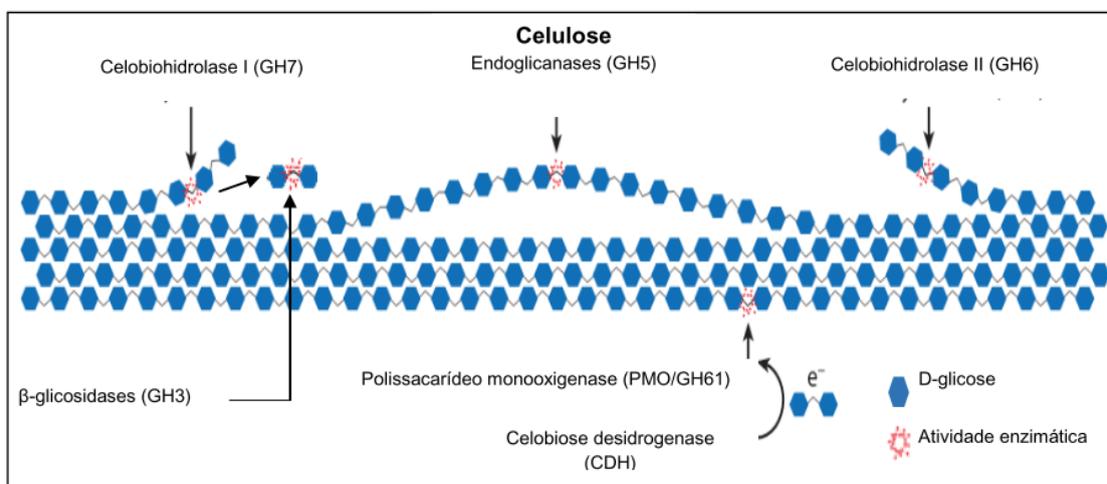
FONTE: LIU et al., 2013

2.4.1 Celulase

As celulasas são biocatalisadores altamente específicos que atuam na hidrólise de celulose liberando açúcares, sendo a glicose a que mais desperta um interesse comercial para a indústria. De acordo com seu local de atuação no substrato

essas enzimas são classificadas como: endo-1,4- β -glicanases (GH5), exo-1,4- β -glicanases (GH7) e β -glicosidases (GH3). As GH5 atuam na região interna das fibras de celulose liberando oligossacarídeos; as GH7 ou celobiohidrolases (GH6) atacam as extremidades das fibras liberando unidades de glicose; e as GH3 hidrolisam celobiose em duas moléculas de glicose (VAN DEN BRINK; VRIES, 2011; GLASS *et al.*, 2013) (Figura 8).

Figura 8: Mecanismo de ação de enzimas que atuam na degradação da celulose



FONTE: SCHNEIDER, 2009.

Adicionalmente, as enzimas do complexo celulolítico podem ainda trabalhar de forma conjunta, apresentando uma melhoria no processo de degradação, essa atuação conjunta é denominada sinergia (OLSSON; HAHN-HAGERDAL, 1996). A utilização de biocatalisadores enzimáticos na conversão de celulose em glicose, apesar de ainda representar um custo de produção relativamente elevado, se mostra vantajoso devido a especificidade e por reduzir o custo em outras etapas, associado a menor demanda energética e menor geração de subprodutos tóxicos (CASTRO; PEREIRA JR, 2010).

2.4.2 Xilanase

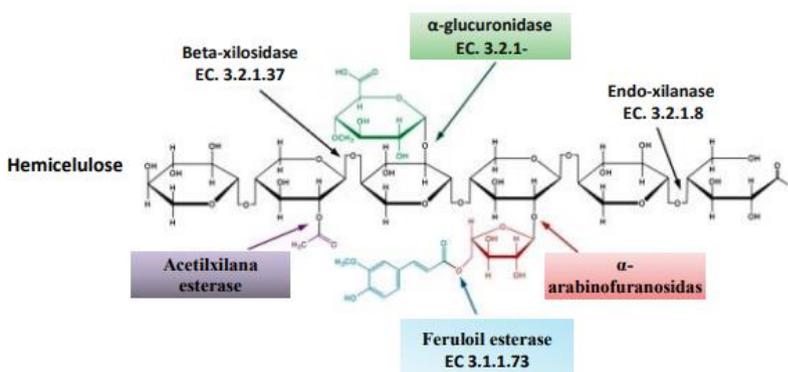
Para que o processo de degradação da biomassa ocorra de maneira mais eficiente é necessário a ação de um complexo enzimático com várias especificidades incluindo as enzimas que despolimerizam a cadeia principal, como as xilanases. As xilanases são enzimas que participam do processo de hidrólise das

xilanas (presentes na hemicelulose), liberando unidades de xilose. Essas enzimas são encontradas em protozoários, crustáceos, insetos, caramujos, sementes de plantas terrestres, entretanto, os microrganismos que participam da quebra de paredes celulares vegetais são sua principal fonte de produção (LARA, 2013). Assim, os fungos filamentosos apresentam maior interesse por secretar as enzimas em meio extracelular e em níveis mais altos do que os encontrados em leveduras e bactérias (SUNNA E ANTRANIKIAN, 1997)

As endo-1,4-xilanases atacam o esqueleto de xilana de forma aleatória e as β -xilosidases são enzimas desramificadoras que clivam os xilooligossacarídeos liberando monômeros de xilose. A remoção dos grupos laterais acetil e fenólicos da hemicelulose, por sua vez, são catalisadas por α -arabinofuranosidases, α -glucuronidase, acetilxilanaesterase e ácido feruloilesterase (PIMENTEL, 2019). A figura 9 traz de forma esquemática esse mecanismo.

Quando os substituintes são removidos, a xilana pode tornar-se menos solúvel, formando agregados que estereoquimicamente retardam ou diminuem o processo de degradação dessa forma a remoção simultânea da cadeia lateral e a clivagem na cadeia principal pelo complexo enzimático se tornam a melhor alternativa para melhorar a taxa de degradação da hemicelulose (LARA, 2013)

Figura 9: Esquema da degradação enzimática da hemicelulose.



FONTE: PIMENTEL, 2019

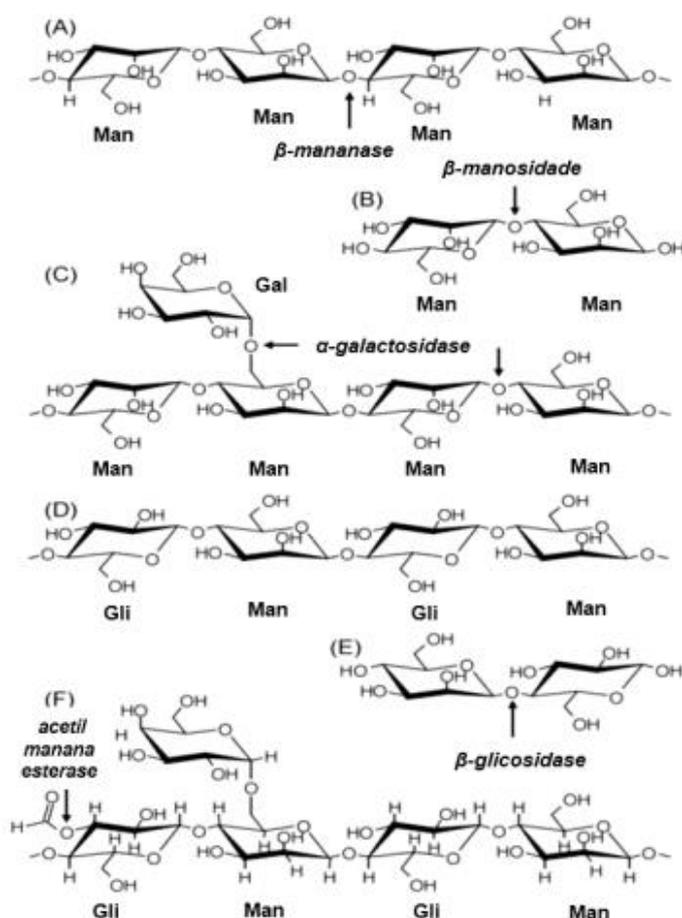
2.4.3 Mananase

As mananases são classificadas como carboidrases, sendo responsáveis pela degradação de cadeias de mananas presentes na fração da hemicelulose (WEINGARTNER, 2010). A hidrólise completa da estrutura de

hemicelulose requer uma ação sinérgica de endo e exo-hidrolases que incluem a β -mananase, a β -glicosidase e a β -manosidase como representado na figura 10. Estas enzimas atuam na cadeia principal da hemicelulose e estão associadas a enzimas para clivagem de cadeias laterais tais como acetil manana esterase e α -galactosidase, como representado na figura 9 (MARCO, 2014)

A adição de mananase em coquetéis enzimáticos facilita o contato entre a celulase e as fibrilas de celulose, aumentando assim a liberação de açúcares redutores e glicose. As β -mananases alcalinas, geralmente mostram vantagens em aplicações na indústria de polpa de papel, celulose e detergentes. As β -mananases neutras são adequadas para a bioconversão de β -manana em manooligosacarídeos. Enquanto as β -mananases ácidas podem ser utilizadas associadas as celulases e xilanases na hidrólise da biomassa lignocelulósica produzindo o bioetanol de segunda geração (INFANTE, 2019).

Figura 10: Estrutura ilustrativa de diferentes formas de mananas e enzimas requeridas para sua hidrólise



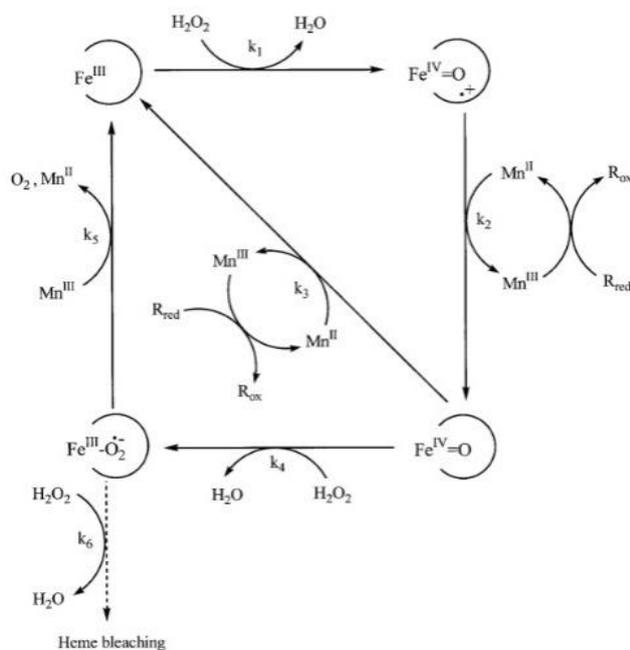
FONTE: Adaptado de VAN ZYL *et al.*, 2010.

2.4.4 Lignina Peroxidase

A família de enzimas peroxidases recebe esse nome porque depende do peróxido de hidrogênio para se tornar ativa. Em um ciclo catalítico clássico, a forma férrica da enzima é oxidada por peróxido de hidrogênio ao radical oxi-ferril (composto I), este composto é então reduzido pela transferência de um elétron do substrato, como por exemplo a lignina, para a forma conhecida como composto II. Posteriormente, a transferência de elétron de uma molécula de substrato para enzima faz com que esta retorne a sua forma inicial e o composto III refere-se à forma inativa da enzima (FORGIARINI, 2006). A figura 11 apresenta o ciclo catalítico da lignina peroxidase de forma esquemática.

A presença de lignina peroxidase em basidiomicetos ligninolíticos tem sido considerada escassa, entretanto crescentes estudos têm sido realizados a respeito desse grupo enzimático, assim como dos fungos que a produzem devido ao seu potencial de aplicação em processos de descontaminação do meio ambiente e na utilização em processos industriais (MENEZES; BARRETO, 2015).

Figura 11: Ciclo catalítico da lignina peroxidase.

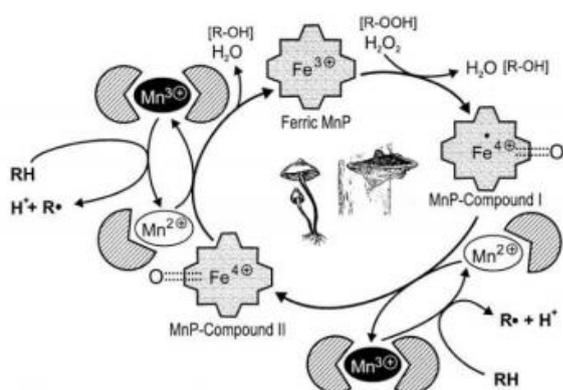


FONTE: TIMOFEEVSKI *et al.*, 1998.

2.3.5 Manganês peroxidase (MnP)

A MnP é uma glicoproteína dependente de H_2O_2 e que apresenta o ferro protoporfirínico IX como grupo prostético, apresenta ainda ponto isoelétrico próximo de 4,9 e massa molar entre 38 – 62,5 Kda. Seu ciclo catalítico (Figura 12) é semelhante ao da Lignina Peroxidase, porém, o Mn^{2+} atua como doador de elétrons para gerar o composto II (HOFRICHTER, 2002).

Figura 12: ciclo catalítico da manganês peroxidase.



FONTES: BUSWELL; ODIER, 1987.

A manganês peroxidase (MnP) é encontrada em fungos lignolíticos e pode atuar juntamente com a lipase e lacase para realizar a biodegradação de lignina e compostos relacionados como hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, ácidos húmicos, corantes sintéticos, poluentes clorados dentre outros, sua atuação se dá principalmente em compostos não fenólicos (FARIA, 2010)

2.3.6 Lacase

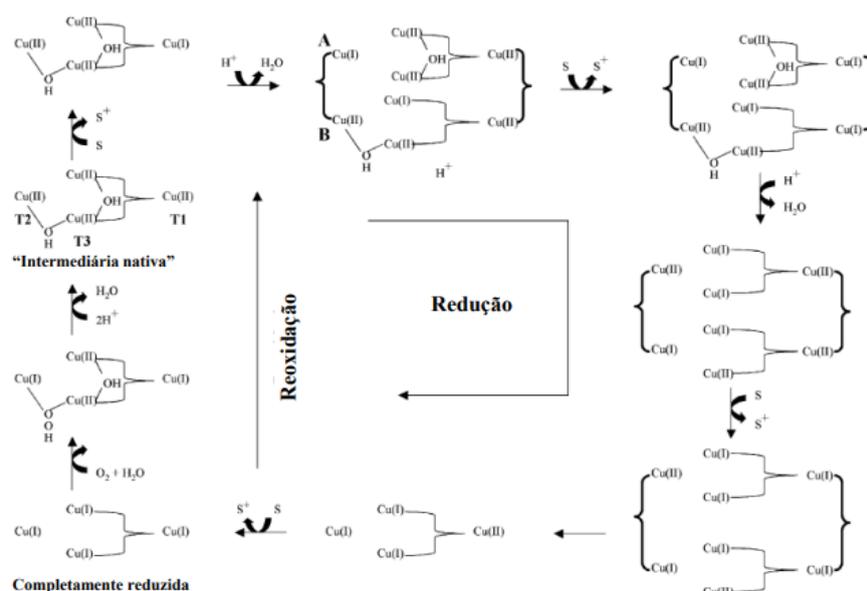
A lacase é uma das principais enzimas do grupo das enzimas lignocelulolíticas, oxida moléculas inorgânicas e aromáticas, e sua aplicação biotecnológica abrange diversos campos como, por exemplo, produção de biocombustíveis, degradação de pesticidas além de aplicações na indústria farmacêutica (BALDRIAN, 2006; DASHTBAN *et al.*, 2010).

As lacases estão envolvidas na oxidação e clivagem da lignina, catalisando a oxidação de polifenóis com oxigênio como acceptor final de elétrons. A enzima apresenta em sua estrutura um centro ativo formado por quatro átomos de cobre em três sítios diferentes de ligação redox, todos com o mesmo estado de

oxidação (Cu^{+2}). Os átomos de cobre presentes na molécula podem ser classificados como Tipo 1, Tipo 2 e Tipo 3. Em sua organização tridimensional as lacases apresentam uma arquitetura simples arranjada em três domínios, cada um apresentando uma topologia β -barril (JÚNIOR, 2019).

A lacase catalisa a remoção de um elétron e um próton do substrato formando assim um radical livre e como resultado tem-se a oxidação de substratos orgânicos e inorgânicos. Durante a reação enzimática o elétron transferido para a enzima reduz o cobre Tipo 1, posteriormente ocorre uma transferência de elétrons para os cobres do Tipo 2 e 3 que promovem a redução do oxigênio, com consequente formação de uma molécula de água como representado na figura 13. (RODAK; PAULISTA, 2017)

Figura 13: Ciclo catalítico da lacase



FONTE: TORRES *et al.*, 2003

Esse grupo enzimático é considerado pouco específico quando comparada à outras enzimas lignocelulolíticas, podendo catalisar a oxidação de diferentes substâncias, tais como complexos metálicos, anilinas e fragmentos fenólicos. Aceitar uma grande diversidade de substratos torna a lacase uma enzima de grande interesse biotecnológico (RODAK; PAULISTA, 2017), sendo empregado na indústria têxtil, indústria de alimentos, biossensores, biorremediação e na produção de polímeros complexos. (DASHTBAN *et al.*, 2010)

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVOS GERAIS

Tendo em vista a crescente busca por práticas mais sustentáveis, o objetivo deste trabalho consiste na realização de um estudo e discussão voltado ao melhor aproveitamento de biomassa a partir de enzimas lignocelulolíticas. O trabalho objetiva trazer os mecanismos enzimáticos e posteriormente as possíveis aplicações biotecnológicas na área, o levantamento de informações foi realizado a partir das plataformas *Science Direct* e Portal de Periódicos CAPES.

3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Levantamento de publicações sobre cadeias de produção mais sustentáveis.
- Levantamento bibliográfico sobre enzimas lignocelulolíticas.
- Levantamento bibliográfico sobre viabilidade de enzimáticas lignocelulolíticas para uso em larga escala para tratamento de biomassa.
- Análise das publicações selecionadas e discussão a respeito das mesmas.

4. METODOLOGIA

A revisão consistiu em levantamento de dados acerca de enzimas lignocelulolíticas e suas aplicações no tratamento de biomassa. As plataformas utilizadas para a busca textual foram *Science Direct* e Portal de Periódicos CAPES, a pesquisa contemplou trabalhos nacionais e internacionais e o intervalo de anos para a busca seguiu o seguinte padrão: para a revisão de conceitos base não se delimitou um intervalo de tempo e para as aplicações biotecnológicas o intervalo foi restrito aos anos 2014 a agosto 2021, trabalhos de 2022 postados em 2021 também foram contemplados nos resultados.

A fim de proporcionar uma padronização nas pesquisas e resultados obtidos, o levantamento dos conteúdos nas plataformas foi conduzido a partir de uma sequência de palavras-chave atribuídas pela autora considerando os objetivos da pesquisa. As combinações utilizadas estão dispostas na tabela 4. As informações pertinentes ao tema foram alisadas e os resultados da pesquisa demonstrados por meio de textos, gráficos e tabelas.

Tabela 4: Combinações de palavras-chave utilizados na busca de publicações.

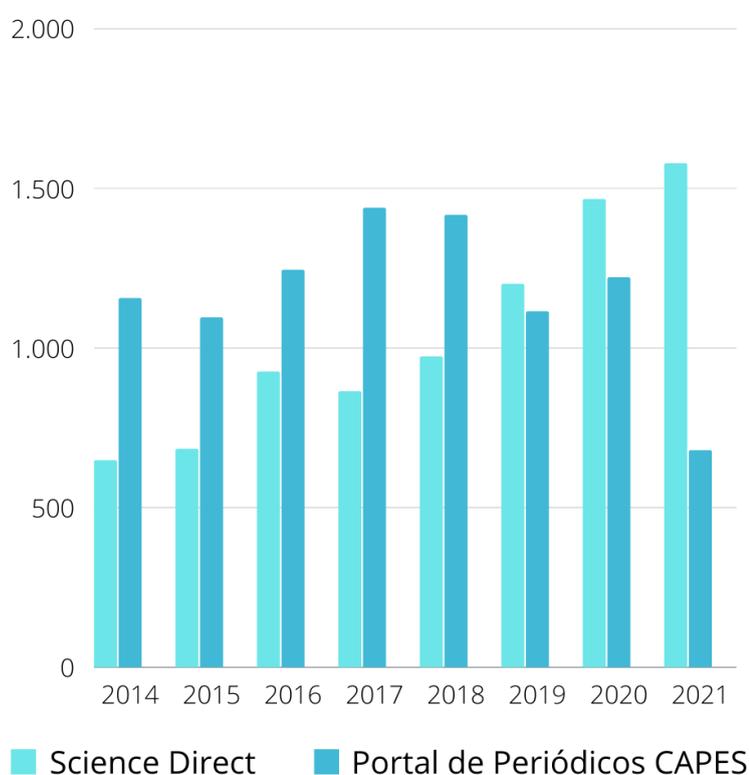
Combinações de palavras	Plataformas utilizadas
<i>Lignocellulolytic enzymes</i>	<i>SciencDirect</i> e
<i>Lignocellulose degradation enzymatic</i>	Portal de Periódicos CAPES
<i>Enzymatic genetic improvement for lignocellulose degradation</i>	
<i>Enzymes for lignocellulose degradation and bioeconomy</i>	

Fonte: A autora, 2021

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os trabalhos encontrados apresentaram uma abordagem vasta, visando promover um melhor aproveitamento das matérias prima disponíveis através de manipulações biotecnológicas e aprimoramento das atividades enzimáticas. O número de publicações entre os anos de 2014 a 2021 foi apresentado no Gráfico 1.

Gráfico 1: Número de artigos dos bancos de dados *ScienceDirect* e Portal de Periódicos CAPES gerados a partir dos termos definidos para pesquisa no período de 2014 a agosto de 2021.



Fonte: A autora, 2021

Ambas as plataformas utilizadas apresentaram um número alto de publicações a partir das palavras chave determinadas, a plataforma *Scienc Direct* teve seus maiores números de publicações nos últimos 3 anos enquanto o Portal de Periódicos CAPES apresentou maiores resultados nos anos 2016, 2017 e 2018. Ao todo a somatória de publicações entre os anos 2014 a 2021 foi de 9.355 no Periódico CAPES e 8.331 na plataforma *Science Direct*. Como os resultados apresentaram se muito amplos optou se por mais um refinamento através dos filtros de pesquisa, os

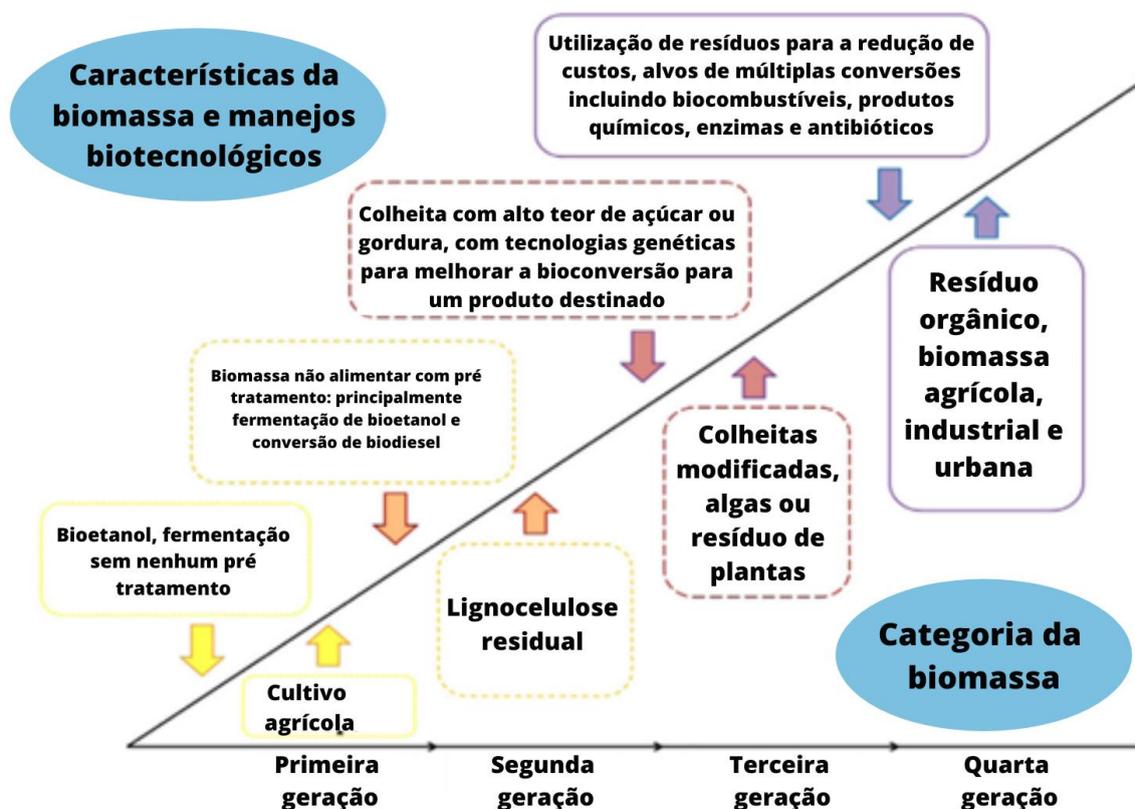
filtros utilizados foram: *Biotechnology & Applied* e *Biotechnology & Applied Microbiology*. Assim foi possível priorizar trabalhos que utilizaram técnicas biotecnológicas para aprimoramento de atividades enzimáticas, processos biotecnológicos favorecidos pelo uso de enzimas lignocelulolíticas e seu impacto para a bioeconomia.

5.1 SELEÇÃO DE BIOMASSA

ISIKGOR (2015) destacou a biomassa lignocelulósica como a maior fonte de carbono orgânico renovável do planeta. Características como a renovabilidade, biocompatibilidade e biodegradabilidade, tornam o material um potencial candidato para a substituição de polímeros à base de petróleo, logo um material de grande interesse para a biotecnologia

A eficiente conversão da biomassa vegetal em bioprodutos de maior valor agregado é descrita em três fases: análise do material, pré- tratamento e downstream. A utilização da biomassa como matéria prima de conversão depende de fatores relacionados a disponibilidade e sazonalidade e também da capacidade de desmonte da complexa estrutural recalcitrante (resistência natural das células das plantas à degradação biológica ou enzimática). Os elevados custos da conversão da biomassa lignocelulósica são, comumente, atribuídos à estrutura deste material (HIMMEL *et al.*, 2007). Desta forma, uma análise criteriosa inicial é essencial para se definir a viabilidade de utilização, delinear as vias mais eficientes de pré-tratamento e se pensar na posterior aplicação (Figura 14).

Figura 14: Materiais lignocelulósicos e o tratamento empregado para produção de álcoois.



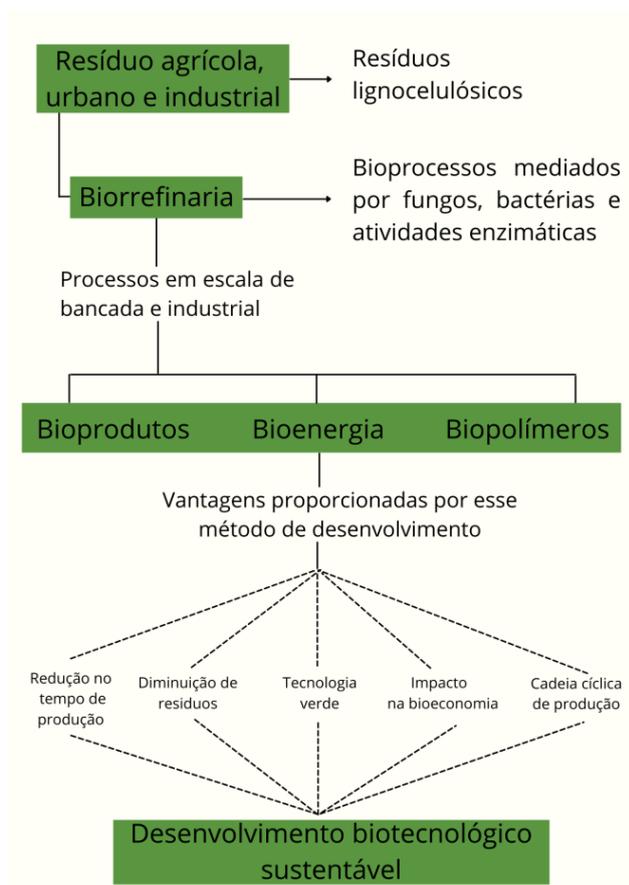
FONTE: Adaptado de YANG *et al.*, 2015.

Após a avaliação do material, deve-se definir o pré-tratamento mais adequado, considerando-se os processos fermentativos e a otimização destes através de diferentes biorreatores e condições microbiológicas. A etapa do pré-tratamento tem por função aumentar a digestibilidade e disponibilidade das frações de hemicelulósicas e celulósicas e remover as frações de lignina. O pré-tratamento pode ser físico, químico, biológico ou misto e responde por aproximadamente 20% do custo total do processo (BARUAH *et al.*, 2018). Por fim a etapa de downstream influencia significativamente para o bom resultado do processo, pois é nessa etapa que ocorre a separação dos produtos alvo (YANG, 2015).

Dados publicados por CHUKWUMA (2020) salientam o importante papel de enzimas lignocelulolíticas para processos de bioconversão de materiais lignocelulósicos residuais em bioprodutos e recursos energéticos vantajosos para o desenvolvimento. O pré-tratamento enzimático diminui a recalcitrância destes

materiais deixando a estrutura mais acessível para manipulação. O fluxograma 2 representa de forma esquemática a cadeia de bioconversão de materiais lignocelulósicos.

Fluxograma 2: Bioconversão de materiais lignocelulolíticos.



FONTE: adaptado de SARSAIYA *et al.*, 2019.

5.2 PRÉ TRATAMENTO DE BIOMASSA

Segundo PLÁCIDO; CAPAREDA (2015) fungos lignocelulolíticos e suas enzimas apresentaram-se nos últimos anos como uma alternativa promissora no pré- tratamento de biomassa residual. ISHOLA e colaboradores (2014) avaliou a viabilidade da utilização de resíduos da extração de óleo de dendê após diferentes condições de pré-tratamento para produção de bioetanol. O pesquisador observou que o material sem pré-tratamento apresentou uma baixa digestibilidade, apenas 3,4%, contudo, após o tratamento biológico, utilizando fungos de podridão branca, a digestibilidade aumentou consideravelmente, chegando a 15,4%. A melhoria no

processo se deve a deslignificação enzimática associada as enzimas extracelulares comuns nos fungos de podridão branca, como, por exemplo, a lignina peroxidase, lacase e manganês peroxidase. Neste trabalho, o tratamento químico utilizando ácido fosfórico resultou em um aumento de até 81,4%; já a associação dos tratamentos ácido e biológico resultou em um aumento de 56,1% na digestibilidade. Apesar do maior porcentual de digestibilidade observado no tratamento ácido, a comparação na perda de materiais pós tratamento (1,3% no biológico, 54,8% no tratamento ácido e 63,6% no associado) demonstra a eficiência do pré-tratamento biológico para aumentar a digestibilidade e na preservação do material.

SULFAHRI e colaboradores (2020) realizaram o pré-tratamento de algas utilizando *T. harzianum*, um fungo produtor de celulase, β -glucosidase e xilanase. As algas são alternativas importantes para a produção de bioetanol, porém também enfrentam grandes desvantagens econômicas relacionadas a etapa de pré-tratamento e o custo elevado para suplementos de nitrogênio no processo fermentativo. O pré-tratamento fúngico aumentou a produção de açúcar em 2,3 vezes quando comparado a macroalgas não tratadas. A suplementação de nitrogênio foi realizada aproveitando ainda a biomassa fúngica recuperada após o tratamento, nestas condições, o rendimento de etanol aumentou em 38,23%, mostrando a viabilidade do processo e as vantagens econômicas.

KARPE e colaboradores (2017) demonstraram a eficiente biodegradação de biomassa residual proveniente de vinícolas a partir de um pré-tratamento enzimático associado ao um tratamento ultrassônico. O tratamento ultrassônico com 0,5 M KOH, seguido pelo tratamento de enzimas mistas, rendeu a maior degradação de lignina, cerca de 13%. As atividades de celulase, β -glucosidase, xilanase, lacase e lignina peroxidase de 77,9, 476, 5.390,5, 66,7 e 29.230,7 U/mL, respectivamente, foram observadas durante a degradação da biomassa. Adicionalmente foi identificada a produção de compostos comercialmente importantes como ácido gálico, ácido litocólico, ácido glicólico e ácido láctico em quantidades consideráveis. A combinação de pré-tratamento sônico e degradação enzimática tem o potencial de melhorar consideravelmente a quebra da biomassa agrícola e produzir compostos comercialmente úteis em tempo notavelmente menor, em torno de <40 h.

Vantagens do pré-tratamento enzimático na melhora da digestibilidade também são observadas em processos de compostagem, que envolvem a biodegradação e transformação de resíduos agrícolas ricos em materiais lignocelulósicos em produtos de maior valor agregado, como substâncias húmicas (WU *et al.*, 2022). ABDELLAH e colaboradores (2021) observaram que o pré-tratamento fúngico de esterco suíno aumentou os níveis de celulasas e auxiliou na etapa termofílica, que ocorreu em um menor pico de temperatura. Em outro trabalho, o uso de inócuos de *actinomicetos* termofílicos no pré-tratamento de esterco suíno modificou a comunidade de microorganismos do sistema e acelerou o processo de degradação de celulose, hemicelulose e lignina, devido ao aumento da disponibilidade de enzimas como xilanase, manganês peroxidase, lignina peroxidase e lacase. (WEI *et al.*, 2019)

Apesar dos bons resultados relacionados ao pré-tratamento enzimático, PLÁCIDO; CAPAREDA (2015) ressaltam a necessidade de melhorias no processo de produção de enzimas, de forma a melhorar a viabilidade econômica e disponibilidade em larga escala para aplicações industriais. Tais problemas vêm sendo superados a partir do emprego de técnicas biotecnológicas baseadas em manipulação genética, imobilização enzimática e formas alternativas de cultivo. Neste contexto, a engenharia genética vem sendo amplamente explorada para o melhor desenvolvimento de microrganismos e suas enzimas. Devido a riqueza de elementos produzidos por microrganismos, a manipulação destes permite a maior produção de enzimas, essa super expressão é bastante vantajosa para o uso industrial, gerando linhagens superiores para aplicação em bioprocessos.

SONG e colaboradores (2020) empregaram técnicas de da engenharia genética para a expressão do gene Lac-2 de *Pleurotus ostreatus*, uma espécie de fungo branco capaz de degradar lignina de forma eficiente, em *Pichia pastoris*, afim de avaliar a degradação de estopa de milho. O sistema de expressão de *Pichia pastoris* apresenta um histórico de boa estabilidade altas taxas de expressão de proteínas recombinantes, que pode ser aumentada de 10-1000 vezes em comparação ao nível de expressão normal. A lacase recombinante X33-Lac-2, ao contrário da maioria das lacases conhecidas que demonstram maior estabilidade em condições mais neutras (pH entre 6,0 e 7,0), mostrou-se relativamente estável em pH

entre 2,5 e 4,0. A X33-Lac-2 degradou lignina de forma bastante eficiente, em torno de 18,36%, enquanto *Pleurotus ostreatus* sem modificação atingiu apenas 14,05% de degradação. Adicionalmente, a X33-Lac-2 mostrou uma boa termoestabilidade, mantendo níveis de atividade de 80% após incubação por 30 min em temperaturas entre 30 e 70 °C. A produção de lacase por fungos em seu estado natural é relativamente baixa acarretando no aumento de custos dos processos e dificultando sua utilização em grande escala enquanto enzimas manipuladas geneticamente apresentam maior potencial de degradação. Portanto, O estudo reforça como a manipulação gênica é um grande aliado para o desenvolvimento de novos processos baseados em enzimas.

SINITSYN e colaboradores (2016) empregaram técnicas de engenharia genética para a otimização da a composição do complexo enzimático de celulase de *Penicillium verrucosum* visando o aumento da capacidade hidrolítica para futuras aplicações biotecnológicas. Para isso realizou-se combinações entre endoglucanase IV (EGIV) de *Trichoderma reesei*, endoglucanase II (EGII) e celobiohidrolase I (CBHI) de *P. verrucosum*, juntamente com β -glucosidase (β -GLU) de *Aspergillus niger*. A composição que resultou em melhores resultados foi de CBHI 23–24%; CBHI 13–17%; CBHII 7– 10%; CBH II 9–10%. A utilização deste coquetel enzimático moldado aumentou a atividade enzimática em 100% quando comparada ao grupo controle.

Adicionalmente, o emprego de materiais de baixo custo para produção de enzimas lignocelulósicas vem apresentando resultados positivos e são cada vez mais explorados para inovações na área. Águas residuais domésticas foram utilizadas por LIBARDI *et al.*, (2019) como meio de cultura alternativo para a produção de celulases. O trabalho fez se o uso de um sistema de biorreator de coluna de bolhas sem imobilização, a atividade máxima de celulase e produtividade a partir do processo foram de de 31 U FP / mL e 645 U FP/mL.h, respectivamente. Após várias etapas de filtração,73,5% da celulase foi recuperada, os resultados demonstraram-se ótimos quanto ao rendimento enzimático e mostraram um potencial desenvolvimento de bioprodutos através de fontes alternativas. O processo, além gerar bioprodutos em níveis satisfatórios, é ambientalmente compatível, reduzindo a carga de poluentes de efluentes aproximando- se do conceito de biorrefinaria.

No mesmo sentido, resíduos agrícolas de baixo custo apresentam-se como uma boa alternativa de substrato para a produção enzimática. Khanahmadi e colaboradores investigaram o uso de farelo de trigo, sorgo, espiga de milho e farelo de soja em frascos para determinar o substrato adequado na otimização da fermentação de estado sólido pela *Aspergillus niger*. O trabalho teve como objetivo final a *produção máxima de xilanase*. O melhor resultado (2919 ± 174 U/g-IDW⁴ a 48 h) foi alcançado utilizando farelo de trigo com faixa de tamanho de partícula de 0,3-0,6 mm, entretanto um ensaio posterior fazendo uso de bandeja, alcançou uma produção de xilanase 2,5 vezes maior e 24 horas mais rápida (Khanahmadi et al., 2018). Perdani e colaboradores também fizeram o uso de resíduos lignocelulósicos como substrato na fermentação, o trabalho teve como objetivo avaliar a extração de lacase extracelular da fermentação em estado sólido de *Trametes versicolor*. Os resíduos testados foram bagaço, talo de milho e casca de arroz. O melhor resultado se deu com o uso de talo de milho pré-tratado por explosão de vapor, obteve-se 6.885 U/mL de atividade lacase (Perdani et al., 2020). Avanços na valorização dos resíduos agroindustriais, como por exemplo para a produção de enzimas lignocelulolíticas sob (SSF) são muito vantajosos visto que o descarte incorreto desses materiais pode acarretar em danos à saúde e poluição ambiental (LEITE et al., 2021)

Outra técnica que também favorece a utilização de enzimas e microrganismos em bioprocessos industriais e biorrefinarias é a imobilização enzimática. Nessa técnica a enzima (ou microrganismo) é retida em uma superfície durável e é reutilizável facilmente no substrato por repetidas vezes, sem que seu rendimento seja significativamente afetado (MANISHA; YADAV, 2017). A imobilização pode ser realizada a partir de diferentes métodos como confinamento de matrizes poliméricas, adsorção em materiais insolúveis, ligação covalente e encapsulamento de membrana (SOUZA et al., 2017).

INGLE e colaboradores (2017) avaliaram o tratamento enzimático de bagaço de cana de açúcar utilizando celulase livres e imobilizadas em nano partículas magnéticas. No primeiro ciclo de hidrólise, a enzima livre alcançou 78% de conversão enquanto a enzima imobilizada 72%, entretanto a enzima imobilizada foi recuperada e utilizada por mais dois ciclos hidrolíticos, com taxa de conversão de 68% e 52% respectivamente. Os resultados demonstram a vantagem da técnica de imobilização

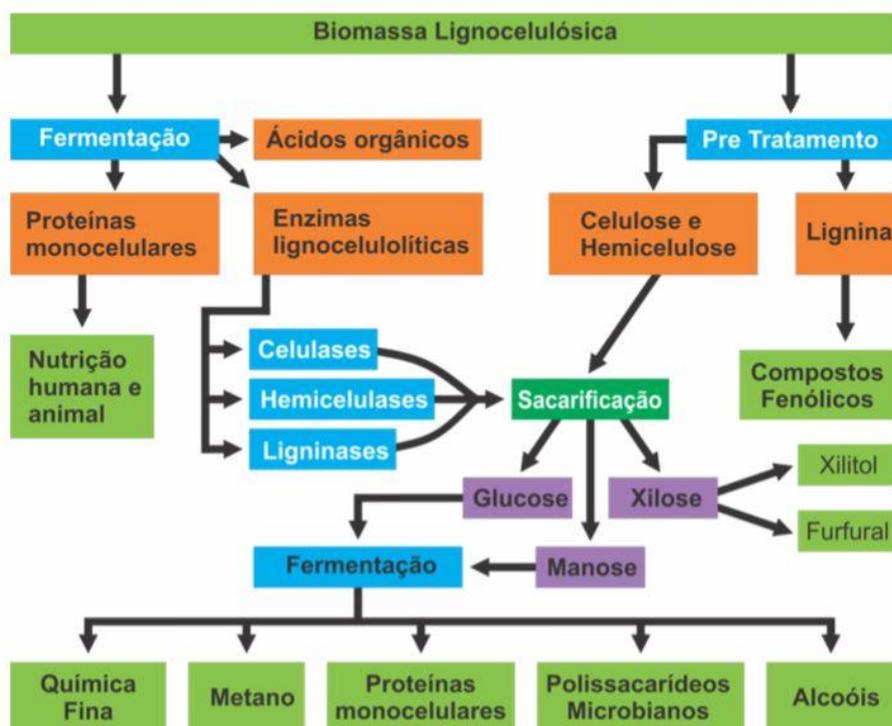
quanto a recuperação e reutilização da enzima, sendo, portanto, uma técnica vantajosa para processos de bioconversão.

Uma vez que a grande maioria dos microrganismos do ambiente ainda não pode ser cultivada em laboratório, a diversidade de recursos genéticos pode ser estudada e preservada por meio do emprego de técnicas de bioprospecção. Neste contexto, a metagenômica destaca-se se por promover uma análise ampla e possibilitar uma a prospecção de enzimas em locais até então pouco explorados. COLOMBO e colaboradores realizaram uma análise metagenômica de materiais lignocelulósicos decompostos naturalmente, provenientes de bagaço de cana de açúcar e esterco de vaca na fase de compostagem termofílica. O sequenciamento demonstrou o potencial para codificação de 34 enzimas pertencentes a 17 famílias de glicosil hidrolase, um terço das proteínas pertencem à família GH3, que abrange enzimas β -glucosidase conhecidas por serem importantes no processo de desconstrução da celulose. Esses resultados positivos evidenciam o rico potencial de obtenção de novas enzimas e coquetéis enzimáticos de interesse biotecnológico a partir de substratos residuais e pouco explorados. (COLOMBO et al., 2016)

Segundo LOPES (2018) coquetéis enzimáticos se caracterizam como uma alternativa valiosa para o impulsionar os de processos que demandam de tratamento enzimático já que o grande desafio para o uso de materiais lignocelulósicos é sua completa degradação, fazendo se necessário várias enzimas trabalhando de forma sinérgica o que pode tornar o processo muito custoso. Logo o descobrimento de novas enzimas e a combinação das mesmas podem apontar uma melhor alternativa para a redução de gastos.

Como apresentado anteriormente, diversos mecanismos possibilitam a bioconversão de biomassa lignocelulósica e através desses processos a biomassa pode originar produtos de alto valor agregado, dentre eles, produtos biotecnológicos, a figura 14 apresenta de forma esquemática algumas vias de conversão associadas ao resultado final após a bioconversão (DORTE, 2019).

Figura 15: Bioconversão de biomassa e produtos gerados após o processo.



FONTE: DORTE, 2019.

6. CONCLUSÃO

O rápido aumento da população global assim como a maior demanda e exploração de recursos naturais desencadeou a crescente geração de resíduos sólidos. Dessa forma estratégias para reutilizar resíduos gerados e obter produtos de valor agregado são vistos como uma forma de aliviar os danos ambientais causados pela ação humana. A reutilização ambientalmente correta de biomassa residual, principalmente através de tecnologias verdes, tem colaborado para mitigar os efeitos negativos associados aos resíduos gerados.

A produção de biocompostos de alto valor agregado a partir de biomassa residual integra de forma muito satisfatória a economia circular. Os materiais lignocelulolíticos presentes na biomassa apresentaram-se como um material importante no desenvolvimento de novas moléculas através da bioconversão. Entretanto sua biodegradação eficiente ainda é o maior empecilho para uso, nesse sentido o uso de enzimas lignocelulolíticas para o tratamento desse material é um recurso importante e promissor.

As enzimas lignocelulolíticas promovem um eficiente desmonte da estrutura lignocelulósica, favorecendo os processos de bioconversão. Dentre as vantagens apresentadas no uso de enzimas lignocelulolíticas para pré-tratamentos pode-se destacar diminuição no tempo de processos, redução de consumo energético, redução na geração de compostos tóxicos e a substituição de materiais químicos e sintéticos apresentando-se como uma alternativa mais sustentável ao desenvolvimento industrial.

Técnicas que promovem maiores produções enzimáticas e custos mais favoráveis podem impulsionar aplicação, assim ferramentas biotecnológicas apresentam se como grandes aliadas. Apesar das dificuldades ainda encontradas, o desenvolvimento enzimático mostra se como uma alternativa promissora contribuindo para cadeias cíclicas de produção e auxiliando para redução no impacto ambiental.

7. REFERÊNCIAS

- ABDELLAH, T. *et al.* Role of psychrotrophic fungal strains in accelerating and enhancing the maturity of pig manure composting under low temperature conditions. **Bioresour Technol.**, 2021.
- ABO-STATE M. A. *et al.* Effect of different pretreatments on Egyptian sugar-cane biogases saccharification and bioethanol production. **Egypt J Pet**, 2013.
- ALEXANDRINO, A.M. *et al.* Aproveitamento do resíduo de laranja para a produção de enzimas lignocelulolíticas por *Pleurotus ostreatus*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 2, 2007.
- ALMEIDA, E. V. R. Valorização da celulose de sisal: uso na preparação de acetatos e de filmes de acetatos de celulose/celulose e quitosana/celulose. **Universidade de São Carlos**, 2009.
- AITKEN, I. *et al.* Constituants fibreux despates papiers et cartons pratique de l'analyse, 1st edition. Pratique de l'analyse, **Centre Technique du Papier**, 1988.
- ALONSO, D. M. *et al.* Bimetallic catalysts for upgrading of biomass to fuels and chemicals,". **Chemical Society Reviews** , 2012.
- AMINI H. *et al.* Organosolv pretreatment of rice straw for efficient acetone, butanol, and ethanol production. **Bioresour Technol**, 2014.
- ARAÚJO, M. C. B.; COSTA, M. F. Lixo no ambiente marinho. **Ciência Hoje**, v. 32, 2003.
- BALDRIAN, P. Fungal laccases-occurrence and properties. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 30, n. 2, 2006.
- BARUAH, J. *et al.* Recent trends in the pretreatment of lignocellulosic biomass for value-added products. **In Frontiers in Energy Research**. Vol. 6, 2018.
- BLEY JR., C. Agroenergia da biomassa residual. **Plataforma Itaipu de Energias Renováveis**, 2009.
- BRISTOTI *et al.* Diagnóstico da utilização e da oferta da biomassa vegetal no Rio Grande do Sul. Núcleo de Energia, PROMEC, UFRGS, 1993.
- BUSWELL, J.A.; ODIER, E. Lignin biodegradation. **CRC Critical Reviews in Biotechnology**, v.6, n.1, 1987.
- CARVALHO, R.S.S., Mercados de carbono e o potencial dos resíduos agrícolas/agroindustriais: uma revisão bibliográfica. Departamento de Engenharia de Produção, **Universidade Federal de Sergipe**, 2019.
- CANTERI, M. H. G. *et al.* Pectina: da Matéria-Prima ao Produto Final. **Polímeros**, 2012.
- CASTRO, A. M. DE; PEREIRA JR, N. Produção, propriedades e aplicação de celulasas na hidrólise de resíduos agroindustriais. **Química Nova**, v. 33, 2010.
- CHUKWUMA, O. B. et al. Lignocellulolytic enzymes in biotechnological and industrial processes: A review. **Sustainability (Switzerland)**, v. 12, n. 18, 2020.
- CIOLACU, D. E. Structure-Property Relationships in Cellulose-Based Hydrogels. **Institute of Macromolecular Chemistry**, 2018.
- CHUKWUMA, O. B. et al. Lignocellulolytic enzymes in biotechnological and industrial

- processes: A review. **Sustainability (Switzerland)**, v. 12, 2020.
- COLOMBO, L.T. *et al.* Applying functional metagenomics to search for novel lignocellulosic enzymes in a microbial consortium derived from a thermophilic composting phase of sugarcane bagasse and cow manure. **Antonie van Leeuwenhoek**, 2016.
- DASHTBAN, M. *et al.* Fungal biodegradation and enzymatic modification of lignin. *International Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, v. 1, 2010.
- DHILLON, R.S.; VON WUEHLISCH, G.; Mitigation of global warming through renewable biomass. **Biomass and Bioenergy**, v.48, 2013.
- DHILLON, G.S. *et al.* Utilization of different agroindustrial wastes for sustainable bioproduction of citric acid by *Aspergillus niger*. **Biochem Eng J**, 2011.
- DORTE, R. P. D. Investigação de fungos ligninolíticos na produção de lacase utilizando lignina kraft e borra de café. **UTFPR**, 2019.
- FENGEL, D.; WEGENER, G. Wood Chemistry, Ultrastructure, Reactions. **Walter de Gruyter**, 1989.
- GIRIO, F. M. *et al.* Hemicelluloses for fuelethanol: A review. **Bioresource technology**, v. 101, n. 13, 2010.
- GLASS, N. L. *et al.* Plant cell wall deconstruction by ascomycete fungi. **Rev. Microbiol**, 2013.
- GONZALES, L. *et al.* Relationship between mineralization of synthetic lignins and the generation of hydroxyl radicals by laccase and a low molecular weight substance produced by *Petriellidium fusoideum*. **Enzyme and Microbial Technology**, 2002.
- EYLEN D. V. *et al.* Dongen Fv, Kabel M, Bont Ja. Corn fiber, cobs and stover: enzymeaided saccharification and co-fermentation after dilute acid pretreatment. **Bioresour Technol**, 2011.
- FARIA, R. A. Estudo da produção de enzimas ligninolíticas por *Ceriporiopsis subvermispora*. Dissertação Mestrado em Ciências - **Escola de Engenharia de Lorena**, Universidade de São Paulo, 2010.
- FILHO, G. R. *et al.* Síntese de poliestireno Sulfonado para aplicações no tratamento de água produzido a partir de copos e bandejas descartadas de poliestireno. **Química Nova**, Vol. 31, 2008.
- FORGIARINI, E. Degradação de corantes e efluentes textéis pela enzima horseradish peroxidase (HRP). **Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos**, 2006.
- HIMMEL, M. E. *et al.* Biomass recalcitrance: Engineering plants and enzymes for biofuels production. **In Science**, Vol. 315, 2007.
- HOFRICHTER M. Review: lignin conversion by manganese peroxidase (MnP). **Enzyme and Microbial Technology**. v.30, 2002.
- IDEIA CIRCULAR. O que é economia circular? Disponível em: <https://www.ideiacircular.com/economia-circular/>. c2018.
- INCT, Centro de Prospecção de fungos e engenharia de enzimas, 2014.
- INFANTE, J. DA C. Imobilização e caracterização bioquímica de mananases e pectinases produzidas por *Aspergillus brasiliensis*: potencial para aplicação na clarificação de sucos de frutas. Tese (Doutorado em Bioquímica) - Faculdade de

Medicina de Ribeirão Preto, **Universidade de São Paulo**, 2019.

INGLE, A. P. et al. Comparative evaluation of free and immobilized cellulase for enzymatic hydrolysis of lignocellulosic biomass for sustainable bioethanol production. **Cellulose**, v. 24, n. 12, 2017.

ISHOLA, M. M. et al. Effect of fungal and phosphoric acid pretreatment on ethanol production from oil palm empty fruit bunches (OPEFB). **Bioresource Technology**, v. 165, 2014.

ISIKGOR, F. H.; BECER, C. R. Lignocellulosic biomass: a sustainable platform for the production of biobased chemicals and polymers. **Polymer Chemistry**, v. 6, 2015.

JANUSZ, G. et al. Lignin degradation: Microorganisms, enzymes involved, genomes analysis and evolution. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 41, n. 6, 2017.

JÚNIOR, J. C. S. S. Imobilização e caracterização físico-química parcial de uma lacase produzida por *Pleurotus pulmonarius* utilizando fermentação em estado sólido com resíduos agroindustriais Imobilização e caracterização físico-química, **Universidade estadual do sudoeste da bahia**, 2019.

JURGENS, I; SCHLAMADINGER, B; GOMEZ, P. Bioenergy and the emerging market for carbon credits. *Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change*, v.11, 2006.

KARPE, A. V. et al. Winery biomass waste degradation by sequential sonication and mixed fungal enzyme treatments. **Fungal Genetics and Biology**, 2017.

KIM J.H. et al. Feasibility of producing ethanol from food waste. **Waste Manag**, 2011.

KIRK, T. K.; CULLEN, D. Enzimology and molecular genetics of wood degradation by white-rot fungi. **Environmentally Friendly Technologies for the Pulp and Paper Industry**, 1998.

KUHAD R. C. et al. Bioethanol production from pentose sugars: current statues and future prospects. **Renew Sustain Energy**, 2011.

KUMAR S. et al. Bioethanol production from *Gracilaria verrucosa*, a red alga, in a biorefinery approach. **Bioresour Technol**, 2013

LAWFORD, H. G.; ROUSSEAU, J. D. Cellulosic fuel ethanol – alternative fermentation process designs with wild-type and recombinant *Zymomonasmobilis*. **Appl. Biochem. Biotechnol**, 2003.

LEITE, P. et al. Recent advances in production of lignocellulolytic enzymes by solid-state fermentation of agro-industrial wastes. **In Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry**, Vol. 27, 2021.

LIBARDI, N. et al. Simultaneous cellulase production using domestic wastewater and bioprocess effluent treatment. A biorefinery approach, **Bioresource Technology**, Vol. 276, 2019.

LIM, X. L.; LAM, W. H. Review on clean development mechanism (cdm) implementation in malaysia. **Renewable and sustainable energy reviews**, v.29, 2014.

LINO, A. G. Composição Química a Estrutural da Lignina e Lipídios do Bagaço e Palha da Cana-De Açúcar. **Universidade Federal de Viçosa**, 2015.

LIU, G. et al. Development of highly efficient, low-cost lignocellulolytic enzyme systems in the post-genomic era. **Biotechnol Adv.**, 2013.

- MANISHA; YADAV, S. K. Technological advances and applications of hydrolytic enzymes for valorization of lignocellulosic biomass. **Bioresource Technology**, v. 245, 2017.
- LOPES, A. M.; FERREIRA FILHO, E. X.; MOREIRA, L. R. S. An update on enzymatic cocktails for lignocellulose breakdown. **Journal of Applied Microbiology**, v. 125, n. 3, 2018
- LOPEZ J. A. S. *et al.* Biorefinery of waste orange peel. **Crit Rev Biotechnol**, 2010.
- LOMBARD, Vicent *et al.* The carbohydrate-active enzymes database (CAZy) in 2013. **Nucleic Acids Research**, v. 42, 2014.
- MARCO, J. DA C. I. DE. Produção e caracterização de mananase de *Aspergillus foetidus* cultivado em casca do grão da soja, **Universidade de Brasília Instituto de Ciências Biológicas Departamento de Biologia Celular**, 2014.
- MELO, P. G. Estudo das propriedades físico-químicas de membranas de acetato de celulose/glicerol incorporadas com aditivos de lignina extraída do endocarpo da Macaúba (*Acrocomiaaculeata*) e seus derivados modificados quimicamente, **Universidade Federal de Uberlândia**, 2015.
- MENEZES, C. R. DE; BARRETO, A. R. Biodegradação de resíduos lignocelulósicos por fungos basidiomicetos: Caracterização dos resíduos e estudo do complexo enzimático fúngico. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 19, n. 2, 2015
- MOHANRAM, S. *et al.* Novel perspectives for evolving enzyme cocktails for lignocellulose hydrolysis in biorefineries. *SustChemProcess*, 2013.
- MTUI, G.Y.S. Lignocellulolytic enzymes from tropical fungi: Types, substrates and applications. **Essays**, 2012.
- OKOLIE, J. A., NANDA, S., DALAI, A. K., & KOZINSKI, J. A. Chemistry and Specialty Industrial Applications of Lignocellulosic Biomass. In *Waste and Biomass Valorization*. **Springer Science and Business Media B.V**, 2021.
- OLSSON, L.; HAHN-HAGERDAL, B. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates for ethanol production. **Enzyme and Microbial Technology**. v.18, 1996.
- PALMA, M.B. Influência da agitação e da aeração na atividade de xilanases de *Penicillium janthinellum*. Dissertação Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos - **Universidade Federal de Viçosa**, 1993.
- PIMENTEL, P.S.S.R. Desenvolvimento de coquetéis enzimáticos a partir de diferentes fungos filamentosos e aplicação na hidrólise da biomassa lignocelulósica. **Universidade Federal do Amazonas (UFAM)**, 2019.
- PLÁCIDO, J.; CAPAREDA, S. Ligninolytic enzymes: A biotechnological alternative for bioethanol production. **Bioresources and Bioprocessing**, v. 2, n. 1, 2015.
- PRASETYO, J.; PARK, E.Y. Waste paper sludge as a potential biomass for bioethanol production. **Korean J Chem Eng.**, 2013.
- RAYNER, A. D. M., BODDY, L. Fungal Decomposition of Wood. **Its Biology and Ecology**. New York: Wiley, 1988.
- RODAK, P. C.; PAULISTA, P. F. Aplicação De Lacases Na Degradação De Corantes Sintéticos. **Departamento Acadêmico de Química e Biologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná**, 2017.

- RODRIGUES, C.P.; CAMARGO, J.A. Bagaço de cana-de-açúcar como potencial para co-geração de energia elétrica e etanol celulósico. **São Joaquim da Barra: Iara Coimbra**, 2008.
- RYTIOJA, J. *et al.* Plant-polysaccharide- degrading enzymes from Basidiomycetes. **Microbiol Mol Biol R**, 2014.
- TORRES, E. *et.al.* Potential use of oxidative enzymes for the detoxification of organic pollutants. **Applied Catalysis B: Environmental**, 2003.
- SANCHEZ, C. Lignocellulosi residues: Biodegradation bioconversion by fungi. **Biotechnology Advances**, v. 27, 2009.
- SARSAIYA, S. *et al.* Bioresource Technology Microbial dynamics for lignocellulosic waste bioconversion and its importance with modern circular economy , challenges and future perspectives. **Bioresource Technology**, 2019.
- SEEBERG-ELVERFELDT, C. Carbon Finance Possibilities for Agriculture, Forestry and Other Land Use Projects in a Smallholder Context. 1ed. Roma. Natural Resources Management and Environment Department. **Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO)**, 2010.
- SCHNEIDER, W. D. H. Secretômica e atividades enzimáticas da linhagem selvagem 2hh e do mutante S1M29 DE *Penicillium echinulatum*. **Universidade de Caxias do Sul**, 2009.
- SINITSYN, A. P. *et al.* Optimizing the composition of cellulase enzyme complex from *Penicillium verruculosum*: Enhancing hydrolytic capabilities via genetic engineering. **Catalysis in Industry**, v. 8 , 2016.
- SONG, Q.; DENG, X.; SONG, R. Q. Expression of pleurotus ostreatus laccase gene in pichia pastoris and its degradation of corn stover lignin. **Microorganisms**, v. 8, n. 4, 2020.
- SULFAHRI *et al.* Fungal pretreatment as a sustainable and low cost option for bioethanol production from marine algae. **Journal of Cleaner Production**, v. 265, 2020.
- SUNDARARAJ, R. *et al.* Natural durability of timbers under indian environmental conditions - an overview. International. **Biodeterioration and Biodegradation**, v. 103, 2015.
- SOUZA *et al.* Biotecnologia Aplicada à Agro&Indústria - Vol. 4. Biotecnologia Aplicada à Agro&Indústria - Vol. 4, 2017.
- TIMOFEEVSKI, S.L. *et al.* Mechanisms for protection against inactivation of manganese peroxidase by hydrogen peroxidase. **Archives of Biochemistry and Biophysics**. V. 356, 1998.
- TOLMASQUIM, M. T. *et al.* Potencial de redução de emissões de Co2 em projetos de produção e uso de biocombustíveis. **Empresa de Pesquisa Energética – EPE**, 2005.
- UNEP, United Nations Environment Programme. **The Emissions Gap Report**, 2016.
- VAN DEN BRINK, J.; VRIES, R. P. Fungal enzyme sets for plant polysaccharide degradation. **Appl. Microbiol. Biotechnol**, 2013.
- VAN ZYL, W. H. *et al.* Fungal β -mannanases: Mannan hydrolysis, heterologous production and biotechnological applications. *Process Biochemistry*, v. 45, n. 8 , 2010.

WEINGARTNER, V. Produção, Purificação e Identificação de Mananase, Obtida por Fermentação no Estado Sólido Utilizando Cascas de Soja e *Aspergillus niger*. Departamento de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, **Universidade Federal do Paraná**, 2010.

YANG, X. et al. Current states and prospects of organic waste utilization for biorefineries. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 49, 2015.

YANG, X. et al. Production of bioethanol and biodiesel using instant noodle waste. **Bioprocess Biosyst Eng**, 2014.

WEI et al. Wei Improved 47 lignocellulose-degrading performance during straw composting from diverse sources with actinomycetes inoculation by regulating the key enzyme activities. **Bioresour Technol.**, 2019.

WESENBERG, D. et al. White-rot fungi and their enzymes for the treatment of industrial dye effluents. **Biotechnology Advances**, 2003.

WU, D. et al. Lignocellulose biomass bioconversion during composting: Mechanism of action of lignocellulase, pretreatment methods and future perspectives. **Chemosphere**, 2022.