

## Biodegradação de resíduos lignocelulósicos por fungos basidiomicetos: Caracterização dos resíduos e estudo do complexo enzimático fúngico

*Biodegradation of lignocellulosic wastes by basidiomycetes fungi: Characterization of waste and study of fungal enzyme complex*

Cristiano Ragagnin de Menezes<sup>1</sup>, Andressa Ribas Barreto<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Doutorado em Ciência de Alimentos, Professor do Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria - UFSM, Santa Maria, RS, Brasil

<sup>2</sup>Graduanda em Tecnologia em Alimentos, Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria - UFSM, Santa Maria, RS, Brasil

### Resumo

Ampla variedade e quantidade de resíduos orgânicos são gerados anualmente pela atividade agroindustrial humana. Os materiais residuais constituem um fator negativo na avaliação econômica das operações agrícolas e florestais, provocando efeitos adversos sobre o ambiente no decorrer da sua disposição final. Com isso, surgiu a necessidade do desenvolvimento de pesquisas com o intuito de agregar valor aos produtos e subprodutos da agricultura, principalmente pelo aumento da geração destes. A utilização de resíduos da agroindústria brasileira, além de fornecer diferentes alternativas de substratos para a fermentação, também ajuda nos problemas de poluição ambiental. Uma das possibilidades na degradação de materiais lignocelulósicos é o uso de microrganismos que produzam enzimas específicas que hidrolisam a celulose, como a avicelase, carboximetilcelulase e  $\beta$ -glicosidase (Celulases) enzimas que atuam sobre a porção celulósica, as xilanases, mananases, glucanases e galactanases (Hemicelulases) que atuam sobre a porção hemicelulósica e as enzimas oxidativas como a lignina peroxidase, manganês peroxidase e lacase, definidas como fenoloxidases, que atuam sobre a lignina. Com isso, o objetivo desta revisão é demonstrar a potencialidade de biodegradação destes resíduos agrícolas através da utilização de enzimas lignocelulolíticas produzidas por fungos do gênero basidiomicetos, que na literatura científica, são apontados como naturais degradadores destas matrizes.

*Palavras-chave:* Resíduos lignocelulósicos. Fungos basidiomicetos. Biodegradação. Enzimas.

### Abstract

Wide variety and quantity of organic waste are generated annually by human agribusiness activities. Waste materials are a negative factor in the economic evaluation of agricultural and forestry operations, causing adverse effects on the environment during its disposal. Thus, the need for further research in order to add value to products and by-products of agriculture, mainly by increasing the generation of these. The use of waste of Brazilian agribusiness and provide alternatives substrates for fermentation, also helps in environmental pollution problems. One of the possibilities in the degradation of lignocellulosic materials is the use of specific microorganisms that produce enzymes that hydrolyze cellulose, such as avicelase, carboxymethylcellulase and  $\beta$ -glucosidase (cellulases) enzymes that act on the cellulosic portion, xylanases, mannanases, gluconases and galactanases (hemicellulases) that act on the hemicellulose portion and oxidative enzymes such as lignin peroxidase, manganese peroxidase and laccase, defined as phenoloxidases, acting on lignin. Thus, the aim of this review is to demonstrate the biodegradation potential of these agricultural waste by using lignocellulolytic enzymes produced by Basidiomycetes, which in the scientific literature, are seen as degrading natural these matrices.

*Keywords:* Lignocellulosic residues, basidiomycetes fungi, biodegradation, enzymes.

## 1 Introdução

Nas últimas décadas há uma crescente busca da maior utilização dos resíduos agroindustriais, devido a incessante demanda das atividades agrícolas. Entre estes resíduos, podemos citar o bagaço de cana de açúcar, sabugo de milho, farelo e casca de arroz, etc. O acúmulo de residuais da biomassa aumenta a cada ano, causando deterioração do meio ambiente e perda de recursos. Esse aumento é uma contribuição significativa para o problema da reciclagem e conservação da biomassa. Diversos processos são desenvolvidos para utilização desses materiais transformando-os em compostos químicos e produtos com alto valor agregado como álcool, enzimas, ácidos orgânicos, aminoácidos, etc. A utilização destes resíduos agroindustriais em bioprocessos é uma racional alternativa para produção de substratos, e uma ajuda para solucionar o problema da poluição ambiental, (FU et al., 2015; PANDEY et al., 2000).

As lignoceluloses são os compostos orgânicos mais abundantes na biosfera abrangendo aproximadamente 50% da biomassa no mundo, com uma produção anual estimada entre 10 e 50 x 10<sup>9</sup> toneladas. Esta produção é referente as atividades da agricultura, florestas, frutas e vegetais. Estes compostos agrupam-se em polímeros com ligações covalentes e ponte de hidrogênio acompanhadas diretamente na combinação com ligações de forças Van der Waals. (OVEREND, 1987).

Os resíduos lignocelulósicos são uma grande alternativa para a geração de energia, devido a sua grande disponibilidade na natureza. Atualmente, os maiores usos da lignocelulose concentram-se nas polpas e indústrias de papéis, proteína para comida, em meios tecnológicos de alimentação, além de poderem gerar energia através da produção de etanol (FU et al., 2015; BALLESTEROS, 2001).

Os resíduos agrícolas contêm de 20 a 60% de celulose, 20 a 30% de hemicelulose e 15 a 30% de lignina. O bagaço de cana, farelo de trigo e de arroz, por exemplo, contém cerca de 25 a 40% de celulose e o restante de hemicelulose (20 a 35%) e lignina (15 a 35%) (COWLING et al. 1976).

Espécies de *Pleurotus* são relatados como sendo eficientes colonizadores e degradadores de lignoceluloses. Estes fungos realizam a degradação enzimática da porção lignocelulósica dos substratos pela elaboração das enzimas como celulasas,  $\beta$ -glicosidase, xilanases, lacases, manganês-peroxidases e lignina peroxidases que estão envolvidas na degradação de ligninoceluloses (QINNGHE et al. 2003; PALMIERI et al. 1999).

Os fungos formadores de cogumelos comestíveis formam um grupo altamente degradativo que atuam sobre constituintes maiores de resíduos ligninocelulósicos, como a celulose, a hemicelulose e a lignina (SHISHIDO, 1992).

Os substratos farelo de trigo, farelo de arroz, casca de arroz e bagaço de cana demonstraram ser grandes fontes de carbono para a produção de enzimas celulolíticas e xilanolíticas por *P. sajor-caju*, isto através de fermentação submersa e semi-sólida nos estudos conduzidos por SILVA (2001).

## 2 Revisão de literatura

### 2.1 Composição dos resíduos lignocelulósicos

A lignocelulose representa mais de 90% do peso seco de uma célula vegetal, sendo composta pelos polímeros celulose, hemicelulose e lignina, unidos fortemente entre si por forças não covalentes e ligações covalentes. Nas paredes celulares de tecidos vasculares de plantas terrestres superiores, as fibrilas de celulose estão localizadas em uma matriz amorfa de lignina e hemicelulose. A quantidade de cada um dos polímeros varia com a espécie e a idade da planta, bem como entre as partes de uma planta. Em média, a lignocelulose consiste de 45% de celulose, 30% de hemicelulose e 25% de lignina (GLAZER e NIKAIDO, 1995).

#### 2.1.1 Celulose

A celulose é o mais abundante componente de biomassa em plantas, encontrada principalmente na parede celular destas, correspondendo a aproximadamente 35-50% do peso da planta. É formada por

longas cadeias lineares de moléculas de glicose que são ligadas na forma de unidades de D-anidroglicopiranosose com pontes ésteres (1→4)- $\alpha$ -D-glicosídicas tornando difícil a sua separação do complexo lignolelulósico e particularmente ao processo de hidrólise deste polímero. A resistência da celulose a processos de hidrólise é devido muito mais a sua estrutura cristalina do que a existência de ligações tipo  $\beta$ -1,4 glicosídica. As pontes de hidrogênio conferem as cadeias de celulose uma estrutura altamente ordenada e rígida. Algumas regiões menos ordenadas (amorfas) são mais sensíveis à hidrólise, formando microcristais (LYND, et al. 2002).

Cada uma das fibrilas que compõe a estrutura da celulose é formada pela agregação de cerca de 250 microfibrilas, sendo que cada microfibrila é formada por um pequeno número de feixes de molécula de celulose (fibrilas elementares), onde cada molécula de celulose é formada por mais de mil unidades de glicose, os quais se interligam por pontes de hidrogênio. Em alguns pontos das fibrilas elementares as moléculas de celulose estão dispostas de maneira desordenada, em outros elas se dispõem ordenadamente, formando as micelas de estrutura cristalina. Entre as fibrilas, microfibrilas e fibrilas elementares, ocorrem outros componentes da parede celular como a hemicelulose, lignina, etc SAITO (2005).

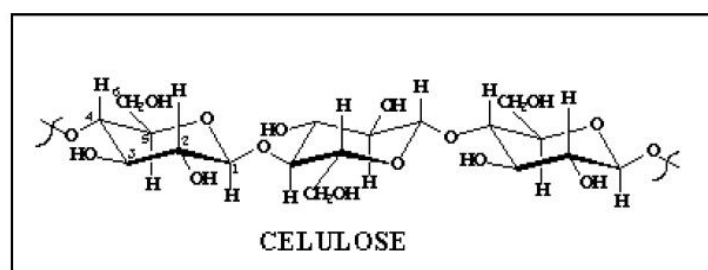


Figura 1 - Estrutura básica da celulose.

Fonte: SAITO (2005).

### 2.1.2 Hemicelulose

As hemiceluloses são macromoléculas, nas quais participam pelo menos dois tipos de unidades de açúcares, apresentando peso molecular muito menor do que a celulose, com 100 a 200 moléculas de monômeros polimerizadas. De acordo com o material lignocelulósicos, as hemiceluloses podem ser classificadas como: xilanas, mananas, arabinoxilanas, arabinogalactanas e arabinanas. Em madeiras duras e em uma gama de resíduos agroindustriais, o componente hemicelulósico apresenta alto conteúdo em xilanas. Estes polímeros ou heteropolímeros da galactose, manose, xilose, arabinose, onde as xiloglucanas (formadas por moléculas de glicose com ligações glicosídicas  $\beta$ -1,4 e ramificações de xilose em ligações  $\alpha$ -1,6) e as xilanas (cadeias de xilose em ligações  $\beta$ -1,4) são os constituintes predominantes nas paredes primárias e secundárias, respectivamente, sendo que as xilanas são as formas mais comuns de hemiceluloses (SACHSLEHNER et al. 1997).

A hemicelulose possui certa similaridade com a celulose, porém é constituída de unidades de pentoses (xilanas) ou unidades alternadas de manoses e glicoses ou unidades de galactoses, com o diferencial de que todas as hemiceluloses possuem cadeias laterais constituídas de ácido acético, pentoses, ácidos hexurônicos e deoxihexoses ( $\alpha$ -L-raminose,  $\alpha$ -L-fucose) que são responsáveis pela solubilidade da hemicelulose em água e/ou em álcalis. Na planta, as hemiceluloses estão na maioria, ligadas às ligninas, através de ligações covalentes, e assim fixadas à estrutura fibrosa.

Para o isolamento da hemicelulose, é necessário quebrar as ligações lignina - polissacarídeo. A baixas temperaturas isso é feito com soluções alcalinas, porém apresenta rendimentos insatisfatórios. Altos rendimentos podem ser obtidos com a deslignificação antes do tratamento alcalino. Quando separadas por explosão a vapor, obtém-se furfural como produto principal, que forma resinas com fenol ou uréia, ou pode ser hidrolisado para ácido maleico. Através da hidrogenação catalítica obtém-se o xilitol (umectante, adoçante, plastificante, aditivo de alimentos) a partir da xilose; manitol

(adoçante, plastificante, secante) a partir da manose, e uma grande variedade de produtos (SCHUCHARDT et al. 2001).

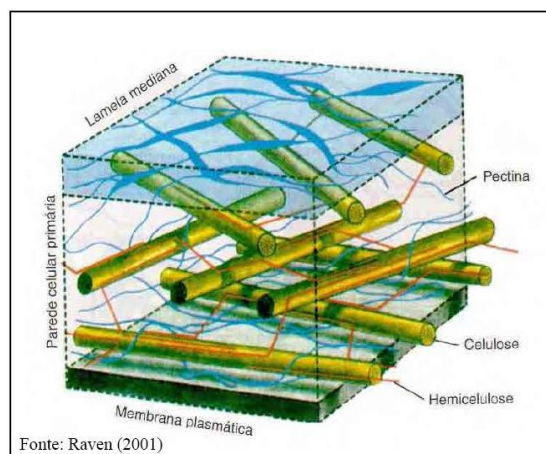


Figura 2 - Arranjo das microfibrilas da celulose  
Fonte: RAVEN (2001).

A hemicelulose de natureza heteropolissacarídea, pode ser extraída quase que integralmente do complexo lignocelulósico através de processo envolvendo utilização de tratamento hidrotérmico que pode ser seguido ou não de rápida descompressão e deste modo desarranjando a estrutura física do material e facilitando a extração de um liquor composto principalmente de xilose com pequeno grau de polimerização (< 10) e portanto de fácil hidrólise que são constituídas basicamente por unidades xilano-piranosídicas unidas por ligações  $\beta$ -1,4 com ramificações variáveis de outros monossacarídeos. (PEREIRA JR., 1999).

A hemicelulose de estrutura heteropolissacarídica, pode ser extraída quase que integralmente do complexo lignocelulósico através de processos envolvendo utilização de tratamento térmico e presença de ácido inorgânico como catalisador em pequenas concentrações. (LARSSON, et al., 1999).

### 2.1.3 Lignina

A lignina possui uma estrutura aromática disposta em uma rede macromolecular tridimensional, sendo mais hidrofóbica que a celulose e a hemicelulose. É o mais abundante composto fenólico na natureza e serve como um ligante entre as fibras da madeira dando rigidez e força à estrutura. Este polímero fenólico é um dos componentes da parede celular dos vegetais, ao lado dos carboidratos estruturais celulose e hemicelulose, não sendo digerido pelas enzimas dos animais mamíferos (VAN SOEST, 1994).

A lignina está diretamente associada a queda da digestibilidade dos nutrientes, associada a elevada concentração da mesma à medida que a planta amadurece; isto tem levado a conclusão que a lignina é o principal fator causador do baixo valor nutritivo das plantas forrageiras maduras (JUNG et. al. 1986).

Superadas pela celulose como o mais abundante composto orgânico na Terra, as ligninas são polímeros formados pela união covalente de três tipos de monômeros: álcoois *p*-cumarílico, guaiacílico e sinapílico (Figura 3). A distribuição e proporção destes monômeros obedecem à origem filogenética de cada vegetal. Estas ligações do tipo éter resistem a vários agentes hidrolíticos e diversos sistemas enzimáticos degradativos. A quantidade relativa de cada monômero difere significativamente, dependendo da origem da lignina (angiospermas, gimnospermas).

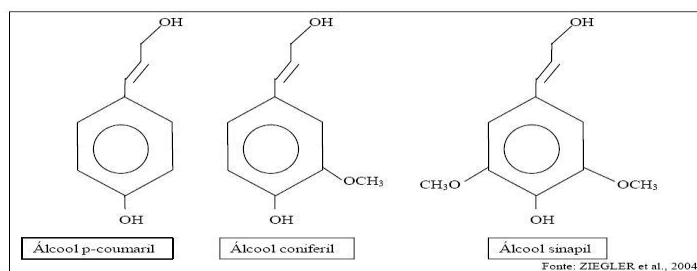


Figura 3 - Precursores da lignina.

Fonte: RAVEN et AL., (1992).

Existe uma grande variação na composição monomérica de ligninas de diferentes espécies, órgãos, tecidos e até mesmo de frações da parede celular. Por exemplo, as madeiras mais moles são quase que exclusivamente formadas de núcleos guaiacílicos, enquanto as madeiras duras possuem núcleos guacílicos e serigílicos na lignina (FUKUSHIMA et al., 2003 e ZIEGLER et al., 2004).

A principal importância da lignina para a planta é a resistência à compressão e a rigidez que ela fornece à parede celular; conferindo resistência ao ataque da maior parte dos microorganismos. Outra função da lignina é também impermeabilizar a parede celular, facilitando o transporte de água para cima nas células condutoras do xilema (RAVEN et al., 1992).

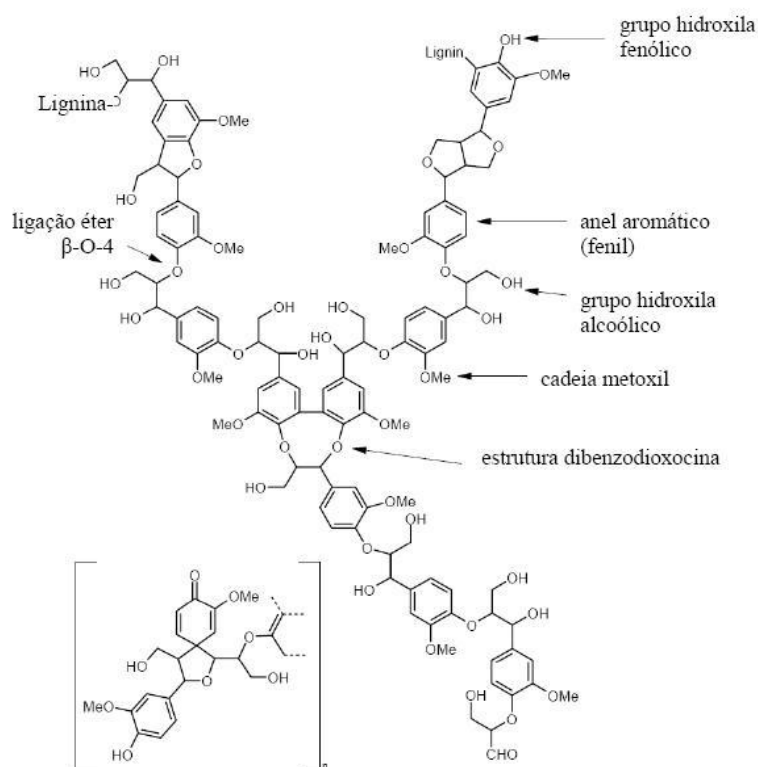


Figura 4 - Segmento de um polímero de lignina.

Fonte: RAVEN (1992).

A lignina é biossintetizada nas plantas vasculares em um complexo encadeado de reações, começando pelo CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O, e originando os ácidos shikímico, prosseguindo via aminoácido aromático L-fenilalanina. A fenilalanina amônialiase, é uma enzima regulatória do metabolismo fenólico nas células vegetais, que converte a fenilalanina no ácido trans cinâmico. A concentração de lignina na célula primária e secundária é estimada em 70 a 90% do total de lignina presente.

Mesmo com vários estudos em andamento para o entendimento do processo degradativo, a degradação da lignina ocorre principalmente por um processo multienzimático, resultante da ação coordenada de uma série de enzimas intra e extracelulares, do grupo das oxidoreduases (representadas por peroxidases, lacases e outras oxidases produtoras de peróxido de hidrogênio) e de metabólitos intermediários de baixa massa molecular, estas enzimas são elaboradas por uma série de microrganismos, principalmente algumas espécies de fungos (LEONOWICZ et al. 1999, PALMIERI, 2000; SHAN e NERUD 2002; CANTARELLA et al. 2003)

## 2.2 Fungos Basidiomicetos

O grupo dos basidiomicetos engloba os fungos que produzem esporos (basidiósporos) de origem sexuada em uma estrutura especializada denominada de basídio e popularmente chamados de cogumelos e orelhas-de-pau. A fase vegetativa dos basidiomicetos é denominada micélio, onde estes são formados por muitos filamentos septados chamados de hifas. O septo das hifas pode ser simples ou possuir ansas, que é uma estrutura característica do grupo e são conhecidos como septo dolipórico em função da estrutura complexa que apresentam. Os basidiomicetos também são caracterizados por possuírem dois tipos básicos de basidiósporos. Os denominados balistosporos, que são liberados violentamente dos basídios e os denominados estatismosporos, que são liberados passivamente (GUGLIOTTA e CAPELARI 1998).

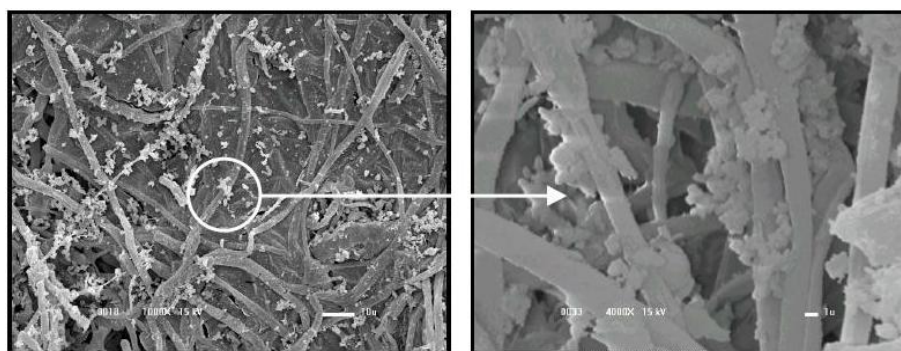


Figura 5 - Microscopia de varredura mostrando a estrutura de um basidiomiceto (*Pleurotus sp* BCCB 068).

Fonte: MENEZES (2007).

Os fungos pertencentes ao gênero *Pleurotus*, denominados popularmente de “cogumelos ostra”, são conhecidos no Brasil como “cogumelos gigantes”, “Caetetuba”, ou ainda, pela colônia japonesa, por “Hiratake” ou “Shimeji”, são cultivadas em palhas de arroz e trigo, podendo também ser utilizados em resíduos de espigas de milho, bagaço de cana-de-açúcar como substratos para o *Pleurotus spp.* (KOHARI et al. 1997).

Os fungos basidiomicetos ligninolíticos, atacam a madeira dura (*hardwood*) ou madeira mole (*softwood*), enquanto outros gêneros, como os ascomicetos degradam unicamente madeira dura. A degradação da lignina por basidiomicetos ligninolíticos é mais rápida que quaisquer outros organismos e eles são responsáveis pela maior parte da degradação da lignina na natureza. Entretanto, o substrato de crescimento não é exclusivamente lignina, mas também hemiceluloses e celulose (KIRK e FARRELL 1987, BLANCHETTE, 1995).

## 2.3 Enzimas Ligninocelulolíticas

Os basidiomicetos apresentam a capacidade de produzir simultaneamente enzimas hidrolíticas e oxidativas necessárias para degradar substratos ligninocelulósicos. A maioria dos fungos da podridão branca produz estas de forma a prover sua adaptação ao meio extremamente rico em ligninoceluloses (VALASKOVÁ, 2005). Estes fungos secretam enzimas que convertem os polímeros em moléculas menores, que são assimiladas e utilizadas como nutrientes. Os fungos decompositores da madeira podem ser classificados em grupos ecofisiológicos: causadores de podridão branca, de podridão parda e de podridão mole. Ao lado de outros microrganismos, os basidiomicetos ligninocelulolíticos atuam na decomposição da matéria orgânica, dinamizando a ciclagem de nutrientes e regulando o equilíbrio energético dos ecossistemas terrestres (TUOMELA et al. 2000).

Nome recomendado	Nome sistemático	EC	Reação
Endo-1,4-β-glucanase	1,4-(1,3; 1,4)-β-D-Glucan-4 glucanohidrolase	3.2.1.4	Endohidrólise de ligações 1,4-β-D-glicosídicas
Exo-1,4-β-glucanases	1,4-β-D-Glucano celobiohidrolase	3.2.1.91	Hidrólise de ligações 1,4-β-D-glicosídicas liberando celobiose
	1,4-β-D-Glucano glicohidrolase	3.2.1.9	Hidrólise de ligações 1,4-β-D-glicosídicas liberando glicose
β-glucosidase	β-D-Glucosídeo glucosidase	3.2.1.21	Hidrólise de terminações não redutivas de resíduos β-D-glicose com liberação de β-D-glicose
Endo-1,4-β-xilanase	1,4-β-D-Xilano xilanohidrolase	3.2.1.8	Endohidrólise de ligações 1,4-β-D-xilosídicas em xilanos
β-Xilosidase	1,4-β-D-Xilano xilanohidrolase	3.2.1.37	Hidrólise de 1,4-D-xilanos para remover sucessivamente resíduos D-xilose
α-L-Arabinofuranosidase	α-L-Arabinofuranosídeo arabinofuranohidrolase	3.2.1.55	Hidrólise de terminações não redutivas de resíduos α-L-arabinofuranosídeo em α-L-arabinosídeos
Acetilsterase	Ester acético acetilhidrolase	3.1.1.6	Um éster acético + H <sub>2</sub> O = um álcool + acetato
α-Glucuronidase	α-D-Glucuronosídeo glucuronosidase	3.2.1.9	α-D-glucuronosídeo + H <sub>2</sub> O = um álcool + D-glucuronato
Endo-1,4-β-mananase	1,4-D-Manano mananohidrolase	3.2.1.78	Hidrólises aleatórias de ligações 1,4-β-D-manosídicas em mananos
β-Manosidase	β-D-Manosídeo manohidrolase	3.2.1.25	Hidrólise de terminações não redutivas de resíduos β-D-manose em β-D-manosídeos
α-Galactosidase	α-D-Galactosídeo galactohidrolase	3.2.1.22	Hidrólise de terminações de resíduos α-D-galactose em α-D-galactosídeos
Lignina peroxidase	diarilpropano O <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> oxidoreductases	1.11.1.14	Catalisa várias oxidações em cadeia laterais alquil, quebra de ligações C-C
Manganês peroxidase	Mn(II): H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> oxidoreductase	1.11.1.13	Cataliticamente dependente de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> e ions Mn <sup>2+</sup>
Lacase	Benzenodiol:oxigênio oxidoreductase	1.10.3.2	4-Benzenodiol + O <sub>2</sub> = 4-benzoquinona + H <sub>2</sub> O
Horseradish peroxidase (peroxidase da raiz forte)	Doador:peróxido de hidrogênio oxidoreductase	1.11.1.7	Doador + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> = doador oxidado + 2H <sub>2</sub> O
Protocatecóico 3,4-dioxigenase	Protocatecoato:oxigênio 3,4-oxidoreductase	1.13.11.3	3,4-Dihidroxibenzoato + O <sub>2</sub> = 3-carboxi- <i>cis,cis</i> muconato
Catecol 1,2-dioxigenase	Catecol:oxigênio 1,2-oxidoreductase	1.13.11.1	Catecol + O <sub>2</sub> = <i>cis,cis</i> muconato
Superóxido dismutase	Superóxido:superóxido oxidoreductase	1.15.1.1	O <sub>2</sub> <sup>-</sup> + O <sub>2</sub> <sup>-</sup> + 2H <sup>+</sup> = O <sub>2</sub> + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
Glioxal oxidase	Glioxalato:oxigênio oxidoreductase	1.2.3.5	Glioxalato + H <sub>2</sub> O + O <sub>2</sub> = oxalato + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
Glicose-1-oxidase	β-D-Glicose:oxigênio 1-oxidoreductase	1.1.3.4	β-D-Glicose + O <sub>2</sub> = D-Glicano-1,5-lactona + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
Aril álcool oxidase	Aril álcool:oxigênio oxidoreductase	1.1.3.7	Álcool aromático primário + O <sub>2</sub> = aldeído aromático + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
Pirano-2-oxidase	Pirano:oxigênio 2-oxidoreductase	1.1.3.10	D-Glicose + O <sub>2</sub> = 2-desidro-D-glicose + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
Celobiose:quinona oxidoreductase	Celobiose:quinona 1-oxidoreductase	1.1.5.1	Celobiose + quinona = celobiona-1,5-lactona + fenol
Celobiose desidrogenase	Celobiose:(aceptor) 1-oxidoreductase	1.1.99.18	Celobiose + aceptor = celobiona-1,5-lactona + aceptor reduzido

Figura 6 - Enzimas que atuam na degradação de lignoceluloses.

Fonte: LEONOWICZ et al. (1999).

Muitos destes microrganismos são capazes de fazer a bioconversão desses substratos lignocelulósicos em compostos de fácil assimilação para o seu metabolismo, onde as enzimas hidrolíticas tem papel fundamental nessa bioconversão, e agem conjunta e sinergicamente formando um complexo com várias enzimas destacando-se: celobiohidrolases, endoglucanases, beta-glucosidases e xilanases (VALASKOVÁ, 2005).

O material lignocelulósico é uma fonte renovável de grande abundância no mundo, onde a celulose pode ser hidrolisada por enzimas hidrolíticas, para a bioconversão destes compostos em açúcares fermentáveis para a produção de etanol. Estudos recentes já apontam esta alternativa para o processo de fermentação (DAWSON e BOOPATHY, 2006).

Atualmente, estas enzimas são utilizadas em várias aplicações industriais e a demanda por enzimas mais estáveis, altamente ativas e específicas tem crescido rapidamente. Em 1995, o mercado mundial de enzimas superou 1 bilhão de dólares, enquanto espera-se para 2005, a comercialização de 1,7 a 2 bilhões. Cerca de 60% das indústrias que vendem enzimas encontram-se na Europa, as outras 40% estão nos Estados Unidos e no Japão. A aplicação de celulases e xilanases começou na década de 80, primeiro em rações animais, seguida pela adição em alimentos e posteriormente em indústrias têxtil e de papel. Atualmente, essas enzimas juntamente com as pectinases, são responsáveis por 20% do mercado mundial (BHAT, 2000).

### 2.3.1 Enzimas celulolíticas

O sistema celulolítico é formado por endoglucanases, exoglucanases e  $\beta$ -glicosidases. A endoglucanase é uma endoenzima que rompe aleatoriamente a cadeia de celulose, onde detaca-se a enzima carboximetilcelulase (CMCase). Esta enzima é capaz de quebrar a molécula de celulose no meio da cadeia para criar finais não redutores para subsequente ação das exoenzimas, atacando as ligações internas da cadeia da celulose na região amorfa, aumentando o número de terminais não redutores. A atividade da CMCase é normalmente determinada usando derivados celulósicos solúveis como carboximetilcelulose (CMC) (TOMME et al., 1995).

As exoglucanases rompem as unidades a partir do final da cadeia, com destaque para a enzima Avicelase, que é a principal responsável pela produção de celobiose a partir da celulose micristalina. Tais enzimas são constituídas por dois tipos:

⇒ Exo-celobiohidrolase: 1,4- $\beta$ -D-glicano celobiohidrolase – Remove resíduos de celobiose a partir de terminal não redutor. As exoenzimas atuam causando a inversão na configuração do carbono 1 do resíduo liberado.

⇒ Exo-glicohidrolase:  $\beta$ -1,4-D- glicanase - remove resíduos de glicose a partir de terminais não redutores da cadeia celulósica.

A  $\beta$ -glicosidase é uma enzima específica para a celobiose tendo como produto final a glicose. Atuam sobre a molécula de celobiose e outras celodextrinas de baixo peso molecular; produzindo glicose na configuração  $\beta$ , o que a diferencia de outras exoglicanases. A  $\beta$ -glicosidase não é considerada uma celulase específica, mas apenas uma enzima auxiliar da ação das celulases que são, inibidas por elevadas quantidades de resíduos de celobiose (WOOD et al. 1994). As enzimas endo e exoglucanases em atuação conjunta solubilizam a celulose cristalina em celooligossacarídeos e celobiose (BIRSAN et. al. 1998; WHITERS, 2001).

Dependendo do sistema celulolítico produzido por um determinado microrganismo a celulose cristalina pode ser convertida a oligodextrinas, celodextrinas e celobiose (BRODA, 1992).

BIRSAN et. al. (1998), observaram que a maioria dos complexos enzimáticos contém mais que um tipo de exoglicanase e endoglicanases e que as isoenzimas podem ser formas modificadas de um único gene ou podem ter origem em genes diferentes.

### 2.3.2 Enzimas hemicelulolíticas

As propriedades químicas e estruturais das hemiceluloses podem ser influenciadas pela presença de uma grande diversidade de resíduos, onde deste modo, necessitam de uma série de enzimas para a sua degradação total. O sistema enzimático responsável pela degradação total das hemiceluloses, contendo xilana como estrutura principal, é composto principalmente por  $\beta$ -1,4-endoxilanase e  $\beta$ -xilosidase, podendo existir a possibilidade da presença da  $\alpha$  L-arabinofuranosidase, que remove os resíduos de L-arabinose substituídos no C-3 das unidades de xilose;  $\beta$ -glucuronidase, que age hidrolisando as ligações  $\beta$ -1,2 entre ácido glucurônico e resíduos de xilose em glucuroxilano;



acetilxilana esterase, que remove grupamentos *O*-acetil a partir da posição C-2 e/ou C-3 dos resíduos de xilose e algumas esterases, como o ácido ferrúlico esterase e o ácido *p*-coumárico esterase que clivam na xilana, respectivamente, as ligações éster entre resíduos de arabinose e ácido ferrúlico ou ácido *p*-coumárico (KANEKO et al. 1993; PULS e SCHUSEIL, 1993; SHAO e WIEGEL, 1995; CHRISTOV e PRIOR, 1993). Todas essas enzimas agem em conjunto permitindo a conversão de xilana em seus açúcares constituintes.

#### 2.3.2.1 $\beta$ -1,4- Endoxilanase (1,4- $\beta$ -D-Xilana Xilohidrolase)

A enzima  $\beta$ -1,4- endoxilanase (1,4- $\beta$ -D-xilana xilohidrolase) provoca a quebra das ligações glicosídicas do esqueleto heteroxilana resultando na diminuição do grau de polimerização do substrato. O ataque ao substrato não é feito ao acaso e as ligações a serem hidrolisadas dependem da natureza do substrato como, por exemplo, o comprimento e o grau de ramificação do composto e a presença de substituintes, sendo que os principais compostos formados no início da hidrólise da xilana são os xilooligossacarídeos (KUAD et al. 1997; VÁZQUEZ et al. 2000; VICENTE, 2002).

Estas enzimas são encontradas em bactérias terrestres e marinhas, em bactérias presentes no sistema digestivo dos ruminantes, fungos, algas marinhas, protozoários, caracóis, crustáceos, insetos e sementes de plantas terrestres (DEKKER e RICHARDS, 1976). Entre as diferentes funções das xilanases estão a biodegradação que permite o fornecimento de fontes de energia metabolizante, a degradação de componentes da parede celular em interação com outras enzimas que degradam polissacarídeos e digestão dos vegetais da dieta (Sunna & Antranikian, 1997).

As xilanases de origem fúngicas têm massas moleculares entre 6 – 83 kDa e são geralmente mais ativas em pHs 3,5 – 6,5 e a 40 – 60°C (Bailey *et al.*, 1991). Em relação às de origem bacteriana, as massas moleculares são maiores, entre 15 a 85 kDa, com poucas exceções. Essas são mais ativas em pHs 5,0 – 8,0 e 50 – 80°C (SUNNA e ANTRANIKIAN, 1997).

As ligações a serem hidrolisadas dependem do comprimento e/ou grau de ramificação da xilana, assim como a presença ou não de substituintes. Inicialmente, a clivagem da xilana tem xilooligossacarídeos como produtos formados, mas conforme a hidrólise prossegue, estes podem ser hidrolisados à xilotriose, xilobiose e xilose (SUNNA e ANTRANIKIAN, 1997).

As endoxilanases são classificadas de diferentes formas, tendo como base os seguintes critérios:

⇒ Os produtos finais liberados pela hidrólise da xilana, podendo ser ramificadoras ou não ramificadoras, sendo que para os produtos não ramificados não há a liberação de arabinose, ao contrário dos produtos ramificados (DEKKER e RICHARDS, 1976).

⇒ Através do ponto isoelétrico e massa molecular, pois as endoxilanases possuem uma forte relação entre os valores das suas massas moleculares e seus pontos isoelétricos. Aproximadamente 70% das endoxilanases ácidas têm massa molecular acima de 30 kDa. Percentuais próximos estão relacionados as endoxilanases básicas que mostram valores de massas moleculares abaixo de 30 kDa. Sendo reportadas várias exceções de endoxilanases com baixo ponto isoelétrico e baixa massa molecular ou o inverso (WONG et al. 1988).

Várias xilanases já foram purificadas de diferentes microrganismos, porém a purificação dessas enzimas é difícil, necessitando de várias etapas, sendo que a recuperação na maioria das vezes é baixa (MORALES et al. 1995; BATAILLON, 2000).

#### 2.3.3.2.2 $\beta$ -D-Xilosidase

A  $\beta$ -D-xilosidase ( $\beta$ -D-xilosídeo xilohidrolase; E.C. 3.2.1.37) são exoglicosidases que hidrolisam xilooligossacarídeos pequenos, a partir da extremidade não redutora (Wong *et al.*, 1988). Estas enzimas são capazes de clivar substratos artificiais como o *p*nitrofenil  $\beta$ -D-xilosídeo (COUGHLAN e HAZLEWOOD, 1993), como foi demonstrado em *Humicola grisea* var. *thermoidea* (ALMEIDA et al. 1995) e *Aspergillus phoenicis* (RIZZATTI et al. 2001).

Vários estudos estão sendo realizados para o melhor entendimento do potencial desta enzima. Seu sistema catalítico hidrolisa os compostos xilooligossacarídeos, gerando compostos com graus de

polimerização menores, até xilose. HASMANN et al. (2003), trabalharam na otimização da  $\beta$ -D-xilosidase para a recuperação de micélios reversos secretados pelo fungo *Penicillium janthinellum*, utilizando o sistema de surfactante catiônico CTAB. Trabalhos de produção, caracterização e estudo das propriedades desta enzima utilizando *Aureobasidium sp.* foram conduzidos por IEMBO et al. (2002) em sistemas de fermentação submersa e estado sólido, demonstrando o ótimo de atividade em pH de 2,5 na temperatura de 65°C.

#### 2.3.3.2.3 Aplicação das enzimas xilanolíticas na indústria

As enzimas que degradam a xilana possuem um grande potencial em várias aplicações na área da biotecnologia. As xilanases estão envolvidas na bioconversão da xilana, altamente presente em resíduos agrícolas e em resíduos provenientes de indústrias alimentícias, em xilose, o qual age como substrato na obtenção de etanol através de processos de fermentação (CHANDRAKANT e BISARIA, 2000) e em xilitol, utilizado como adoçante em vários tipos de alimentos (PARAJÓ et al. 1998).

Atualmente, o interesse nas xilanases aumentou muito, devido ao seu uso em processos de branqueamento da polpa de papel, com processos que dispensam a utilização do cloro (VIKARI, 1994).

A aplicação de xilanases em indústrias alimentícias é muito ampla, com atuação progressiva em associação com as celulasas e pectinases, promovendo a hidrólise de componentes da parede celular e diminuição da viscosidade e a clarificação dos sucos de frutas (WONG et al. 1993).

Em panificações, sua ação está no mecanismo de hidrolisar os compostos arabinoxilanas, facilitando a redistribuição da água na massa, favorecendo seu volume, textura e estabilidade, com considerável aumento no valor nutritivo do alimento (POUTANEN et al. 1987).

Na indústria vinícola, as xilanases são utilizadas na hidrólise da parede celular das uvas, facilitando a maceração de sua casca, a clarificação e aumento da qualidade e estabilidade do vinho (GALANTE et al. 1998).

Na indústria têxtil também existe a utilização das xilanases no processamento de fibras vegetais, como cânhamo ou o linho. De acordo com os estudos conduzidos por PRADE (1995), a incubação de caules de rami secos com as enzimas xilanases libera fibras de celulose intactas que não necessitam de um branqueamento intensivo.

Na indústria de rações para animais, a utilização de xilanases aumenta o valor nutritivo da dieta, devido a melhor digestão e absorção dos componentes das rações (GRAHAM et al. 1998; GALANTE et al. 1998).

### 2.3.3 Enzimas Ligninolíticas

Enquanto os processos de degradação de celulose e hemicelulose são de natureza hidrolítica e ocorrem com maior facilidade, a degradação da lignina representa um processo oxidativo complexo, não específico e estritamente dependente das condições do meio de cultivo do organismo (KIRK & FARRELL, 1987).

A lignina possui uma estrutura altamente complexa, necessitando de um sistema altamente diversificado de enzimas ligninolíticas, enzimas redutoras e enzimas produtoras de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Deste modo, para uma biodegradação eficaz da lignina é necessária uma série de combinações nos processos de óxido-redução, já que não é possível a degradação total destes compostos utilizando estas enzimas separadamente (SCHOEMAKER, 1985).

#### 2.3.3.1 Lacases

Lacases são proteínas globulares contendo entre 10-25% de carboidrato N-ligado, podendo ter estruturas monoméricas, diméricas ou multiméricas, dispostas em subunidades de 45 à 80 kDa, dependendo da espécie e isoforma. É uma glicoproteína contendo cobre no seu sítio ativo, catalisando a redução de O<sub>2</sub> para H<sub>2</sub>O, sem a necessidade de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (LEONOWICZ, 2001).

A lacase catalisa a oxidação via transferência de um elétron de fenóis para radicais fenoxila, sendo que a origem desta enzima é que vai determinar a sua especificidade pelo substrato oxidado. Assim lacases de diferentes fungos podem oxidar diferentes substratos, inclusive em diferentes pHs (RINGLING e VAN ALFEN, 1993).

Para a sua atividade catalítica, em geral, a lacase apresenta quatro átomos de cobre por unidade de proteína ativa, denominados de cobre tipo 1, 2 e 3. O cobre 1 e 2 são os responsáveis pelo processo de captura e transferência do elétron, e o cobre tipo 2 e 3 estão envolvidos na ligação com o oxigênio (CALL e MUCKE, 1997).

As lacases estão muito difundidas pela natureza, sendo produzidas por fungos ou plantas, envolvidas nos processos de polimerizações, desmetilações, oxidações e despolimerizações de compostos fenólicos. Devido à capacidade de catalisar a oxidação de fenóis e outros compostos aromáticos, as lacases fúngicas estão recebendo grande atenção em várias aplicações na indústria de biotecnologia como deslignificação, produção de etanol, modificação de fibras da madeira, clareamento de corantes, síntese de produtos químicos/medicinais e remediação de solos e águas contaminadas. Pesquisas recentes têm sido intensas e muito tem sido elucidado sobre a diversidade de lacases e suas utilidades (COUTO e HERRERA, 2006).

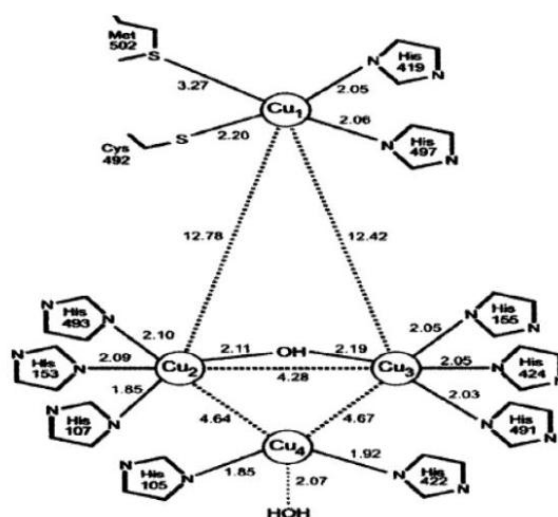


Figura 7 - Centro de cobre de lacase de *Bacillus subtilis*.

Fonte: ENGUITA et al. (2003).

### 2.3.3.2 Lignina- peroxidase

A enzima lignina peroxidase (LiP) foi descoberta em 1984, em culturas de *Phanerochaete chrysosporium* (TIEN e KIRK, 1984). A LiP é uma glicoproteína, composta por 20-30% de açúcar, possui ferro como grupo prostético e necessita de  $H_2O_2$  para a sua atividade catalítica. Sua massa molar é de aproximadamente 38-43 Kda, tendo ponto isoelétrico entre 3,2 e 4,0 e pH ótimo de atividade entorno de 3,0. A lignina peroxidase é produzida durante o metabolismo secundário do fungo, pela falta de nutrientes (MOREIRA NETO, 2006).

No processo de degradação da lignina, a LiP é inicialmente oxidada pelo  $H_2O_2$  e oxida núcleos aromáticos da molécula de lignina (fenólicos e não fenólicos), gerando radicais catiônicos. Estes reagem espontaneamente com nucleófilos (primariamente  $H_2O$ ) e com oxigênio molecular, despolimerizando a lignina e abrindo os anéis aromáticos. Durante o ciclo catalítico o Fe contido, no grupo heme da LiP, passa por estados de óxido-redução. A primeira etapa inicia com a oxidação do Fe (III) da enzima nativa para Fe (IV), pela ação do  $H_2O_2$ , com a geração do composto I, tipo radical catiônico da LiP.

Pela redução do composto I, por transferência de um elétron, é formado o composto II, que ainda contém Fe (IV). O agente redutor pode ser um substrato como o álcool veratrílico ou o  $H_2O_2$ . E por último ocorre a etapa de redução por um elétron, que retorna a enzima a seu estado nativo, completando o ciclo catalítico. Na falta do substrato redutor, o composto II é oxidado pelo  $H_2O_2$  para o composto III, uma conformação da LiP com baixa capacidade catalítica, que com excesso de  $H_2O_2$  é rapidamente inativada (MARTÍNEZ, 2002).

O álcool veratrílico, um metabólito produzido pelos fungos da podridão branca sob condições ligninolíticas, desempenha um papel importante no ciclo catalítico da LiP. Este composto atua como redutor da enzima e a protege da inativação por excesso de  $H_2O_2$  (ROTHSCHILD et al. 2002).

A presença de LiP em basidiomicetos ligninolíticos tem sido considerada escassa, porém existem crescentes estudos desta enzima, 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 (Camarero et al. 2000, CAMERON, 2000; TIMOFEEVSKI e AUSTIN, 2000).

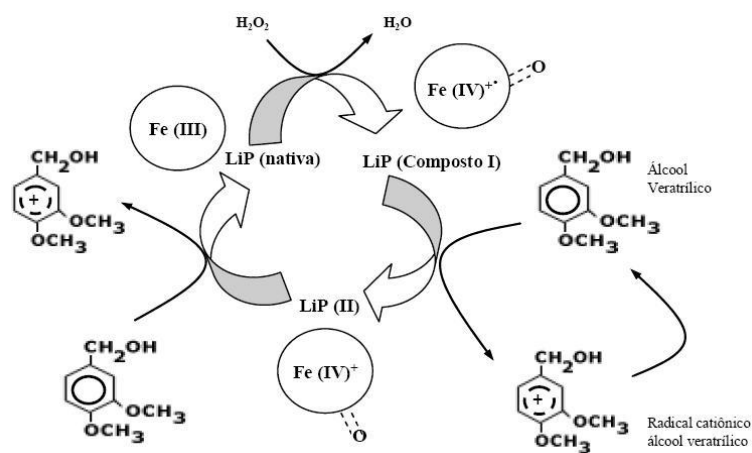


Figura 8 - Ciclo catalítico da enzima lignina peroxidase.

Fonte: ENGUITA et al.(2003).

### 2.3.3.3 Manganês- peroxidase

A manganês peroxidase é a peroxidase extracelular mais comumente encontrada nos fungos da degradação branca. A MnP é uma glicoproteína com ferro protoporfirínico IX como grupo prostético, dependente de  $H_2O_2$  para sua atividade, onde seu ponto isoelétrico é cerca de 4,9 e massa molar entre 38 – 62,5 Kda. Seu ciclo catalítico é semelhante ao da Lignina Peroxidase, porém, o  $Mn^{2+}$  atua como doador de elétrons para gerar o composto II (HOFRICHTER, 2002).

A produção de manganês peroxidase é aparentemente limitada a certos fungos basidiomicetos, e até agora, não se evidenciou qualquer bactéria, levedura e nenhum basidiomiceto micorrízico capaz de produzir esta enzima. A capacidade de sintetizar MnP está distribuída entre grupos de basidiomicetos taxonomicamente distintos. O ciclo catalítico da MnP é iniciado pela ligação de  $H_2O_2$  ou um outro peróxido orgânico ao ferro nativo da enzima, formando um complexo ferro-peróxido.

A manganês peroxidase é produzida simultaneamente com a lignina peroxidase, durante o metabolismo secundário e é regulada pelas concentrações de nitrogênio e carbono no meio de cultura (BUSWELL e ODIER, 1987).

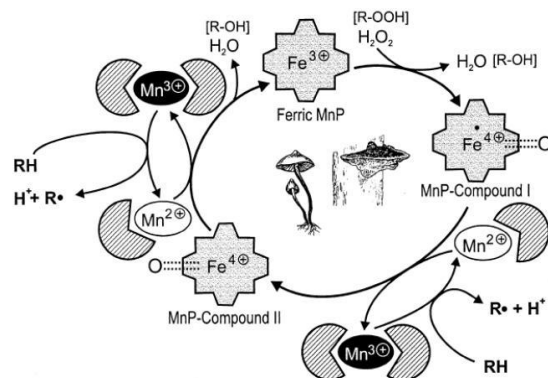


Figura 9 - Ciclo catalítico da manganês peroxidase.

Fonte: BUSWELL e ODIER (1987).

Estas enzimas participam de reações de despolimerização de ligninas e cloroligninas, desmetilação de lignina e deslignificação. A oxidação da lignina por manganês peroxidase depende de íons manganês II (HOFRICHTER, 2002).

### 3 Conclusões

Os resíduos lignocelulósicos fornecem uma importante fonte de compostos como a celulose, hemicelulose e lignina. A utilização de microrganismos que produzam enzimas específicas que hidrolisam a celulose, hemicelulose e que degradem a lignina, como no caso os fungos basidiomicetos, são uma potencial via para a obtenção de compostos específicos para a área biotecnológica à partir da lignocelulose, assim como podem diminuir substancialmente os problemas ambientais causados por estes resíduos.

### 4 Referências bibliográficas

ALMEIDA, M. M.; PASTORE, G. M. Galactooligossacarídeos: produção e efeitos benéficos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.35, n.1-2, p. 12-19, Jan- Dez, 2001.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Compendium of methods for the microbiological examination of food**. 3. ed., Washington. APHA, 1992.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis of AOAC international**. 16. ed., v.2, 1996.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis**. 14 ed. p. 1141, 1984.

BAJPAI, P. Microbial xylanolytic enzyme system: properties and applications. **Advances in Applied Microbiology**, v.43, p.141-194, 1997.

BALLESTEROS, M. Estado del desarrollo tecnológico del aprovechamiento de biomasa: Biocombustibles para el sector del transporte. **Energía**. v.161, p.29-34, 2001.

BATAILLON, M.; CARDINALI, N. A. P.; CASTILLON, N.; DUCHIRON, F. Purification and characterization of a moderately thermostable xylanase form *Bacillus* sp. Strain SPS-0. **Enzyme Microb. Technol.** v.26, p.187-192, 2000.

BHAT, M. K. Cellulases and related enzymes in biotechnology: review. *Biotechnology Advances*, v.18, p.355-383, 2000.

BHAT, M.K. Oligosaccharides as Functional Food Ingredients and their Role in Improving the Nutritional Quality of Human Food and Health. *Recent Res. Dev. Agric. Food Chem.* 2, 787–8025733579, 1998.

BERNET, M. et al. Adhesion of human bifidobacterial strain to cultured human intestinal epithelial cells and inhibition of enteropathogen-cell interactions. *Applied and Environmental Microbiology*. v.59, n.12, p.4121-4128, 1993.

BIRSAN, C. et al. Mechanisms of cellulases and xylanases. *Biochem. Soc. Trans.* v.26 p.156–160, 1998.

BLANCHETTE, R.A. Degradation of lignocellulose complex in wood. *Can. J. Bot.* 73. s.999- 1010, 1995.

TUOMELA, M. et al. Biodegradation of lignin in a compost environment: a review. *Bioresource Technology*. v.72 p.169-183, 2000.

BLIGH, EG.; DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canada Journal Biochemistry Physiological*, v.37, p.911-917, 1959.

BRODA, P. Biotechnology in the degradation and utilization of lignocellulose. *Biodegrad.* v.3 p.219-38, 1992.

BUJALANCE, C. et al. A probiotic strain of *Lactobacillus plantarum* stimulates lymphocyte responses in immunologically intact and immunocompromised mice. *In. J. of Food Microbiology*. v.113, p. 28-34, 2007.

BURLA, G. et al. Effects of different growth conditions on enzyme production by *Pleurotus ostreatus* in submerged culture. *Bioresource in Technology*, v. 42, n.2, p. 89-94, 1992.

BUSWELL, J.A.; CHANG, S.T. Biomass and extracellular hydrolytic enzyme production by six mushroom species grown on soybean waste. *Biotechnology Letters*, v. 16(12). p.1317-1322, 1994.

CAI, J.; HUANG, S.; ZENG, S. Studies on Conversion Corncobs Into Xylo-oligosaccharides by Fungi in Weishengwuxue Tongbao. v.24, p.91-94, 1997.

CALL, H.P.; MUCKE, I. History overview and applications of mediated ligninolytic systems especially laccase-mediator-systems (Lignozym-process). *J. Biotechnol.*, v.53, p.63, 1997.

CAMPBELL, J.M.; FAHEY, G.C. Jr.;WOLF, B.W. Selected Indigestible Oligosaccharides Affect Large Bowel Mass, Cecal and Fecal Short-Chain Fatty Acids, pH and Microflora in Rats. *J. Nutr.* v.127, p.130-136, 1997.

CANTARELLA, G.; GALLI, C.; GENTILI, P. Free radical *versus* electron-transfer routes of oxidation of hydrocarbons by laccase/mediator systems: Catalytic or stoichiometric procedures. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*. v.22, p.135-144, 2003.

- CARVALHEIRO, F. et al. Production of oligosaccharides by autohydrolysis of brewery's spent grain. **Bioresource Technology**. v.91, p 93-100, 2004.
- CARVALHO, G. Nutrição, probióticos e Disbiose. **Nutrição, Saúde & Performance**. ano 3, n.14, p.36-37, 2001.
- CASTANARES, A.; et al. **Journal of Biotechnology**, v.43, p.183, 1995.
- CHANDRAKANT, P.; BISARIA, V.S. Simultaneous bioconversion of glucose and xylose to ethanol by *Saccharomyces cerevisiae* in the presence of xylose isomerase. **Appl. Microbiol. Biotechnol.**, v.53, p.301-309, 2000.
- CHANG, S.T. Bioconversion technology: Composing and production of microbial and metabolites. In: **Workshop Sul-Americano sobre Usos Alternativos de Resíduos de Origem Florestal e Urbana**, Curitiba. **Anais**. Colombo: Embrapa-Florestas. p.71-82, 1997.
- CHRISTAKOPOULOS, P. et al. Purification and characterization of two low molecular mass alkaline xylanases from *Fusarium oxysporum* F2. **Journal of Biotechnology**. v.51, p.181-189, 1996.
- CHRISTOV, L.P.; PRIOR, B.A. Esterases of xylan-degrading microorganisms: production, properties and significance. **Enzyme Microb. Technol.**, v.15, p.460- 475, 1993.
- CLYDESDALE, F.M. 'Aproposal for the Establishment of Scientific Criteria for Health Claims for Functional Foods' in **Nutr. Res.**, v.55, p.413-423, 1997.
- COLLADO, A.C.; MERILUOTO, J.; SALMINEN, S. *In vitro* analisis of probiotic strain combinations to inhibit pathogen adhesion to human intestinal mucus. **Food Research International**. v.40, p.629-636, 2007.
- COLLINS, J.K.; THORNTON, G.; SULLIVAN, G.O. Selection of probiotic strains for human applications. **International Dairy Journal**.v.8, p.487-490, 1998.
- COLLINS, T. et al. A novel family 8 xylanase, functional and physicochemical characterization. **Journal of Biological Chemistry**. v.277, p. 3513-3519, 2002.
- COTTA, M.A.;ZELTWANGER, R.L. Degradation and utilization of xylan by the ruminal bacteria *Butyrivibrio fibrisolvens* and *Selenomonas ruminantium*. **Applied and Environmental Microbiology**. v.61,n.12, p.4396-4402, 1995.
- COWLING, E.B.; KIRK, T.K. Properties of cellulose and lignocellulose materials and substrats for enzymatic conversion processes. **Biotechnology and Bioengineering Symposium**. v.6, p. 95-123, 1976.
- CRITTENDEN, R.G.; PLAYNE, M.J. Production, properties and aplications of food-grade oligossaccharides. **Trends in Food Science & Technology**. v.7, n.11, p.353-361, 1996.
- CRITTENDEN, R.G.; TANNOCK, G.W. Probiotics: A critical review. **Horizon Scientific**. Wynondhan. UK, p. 141-156, 1999.
- CORETTI, K. Embutidos: Elaboración y Defectos. Zaragoza (Espanha): Acríbia, 1986.

CUMMINGS, J. K.; MACFARLANE, G.; SULLIVAN, G.O. Prebiotic digestion and fermentation. **American Journal of Clinical Nutrition**. v.73(Suppl.), 415S-420S, 2001.

DAVIDSON, M. et al. Effects of dietary inulin in serum lipids in men and women with hypercholesterolemia. **Nutrition Research**, v.3 p. 503-517, 1998.

DAVIDSON, P. M.; JUNEJA, V. K. Antimicrobial Agents. In: BRANEN, A. L.; DAVIDSON, P. M.; SALMINEN, S. **Food Additives**. New York: Marcel Dekker, Cap. 4, p. 83-137, 1989.

DAWSON, L.; BOOPATHY, R. Use of post-harvest sugarcane residue for ethanol production. **Bioresource Technology**. v.98, p.1695-1699, 2007.

DEKKER, R. F. H; RICHARDS, G. N. Hemicellulases: their occurrence, purification, properties, and mode of action. **Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.**, v. 32, p. 277-352, 1976.

DEN HAAN, R.; VAN ZYL, W.H. Enhanced xylan degradation and utilization by *Pichia stipitis* overproducing fungal xylanolytic enzymes. **Enzyme and Microbial Technology**. v.33, p. 620-628, 2003.

DE VRIES, R.P. et al. Synergy between enzymes from *Aspergillus* involved in the degradation of plant cell wall polysaccharides. **Carbohydrate Research**. v. 327, p.401-410, 2000.

DOHNALEK, M.I.H.; OSTROM, K.M.; HILTY, M.D. Use of Indigestible Oligosaccharides to Prevent Gastrointestinal Infections and Reduce Duration of Diarrhea in Humans, USA Patent US 5827526, 1998.

DUNCAN, S.M., SCHILLING, J.S. Carbohydrate-hydrolyzing enzyme ratios during fungal degradation of woody and non-woody lignocellulose substrates. **Enzyme and Microbial Technology**. v.47, p.363-371, 2010.

EBRINGEROVÁ, A.; HEINZE, T. Xylan and Xylan Derivatives - Biopolymers with Valuable Properties,. Naturally Occurring Xylans Structures, Isolation Procedures and Properties' in **Macromol. Rapid Commun**. v.21, p.542-556, 2000.

EI-NASSER, N.H.A.; HELMY, S.M.; EI-GAMMAL, A.A. Formation of enzymes by biodegradation of agricultural wastes with white rot fungi. **Polymer Degradation and Stability**. v.55, p.249-255, 1997.

FAO-WHO. Food and Health Agricultural Organization of the United Nations and World Health Organization. Guidelines for the evaluation of probiotics in food. **Working Group Rep. Food and Health Agricultural Organization of the United Nations and World Health Organization**, Washington, DC. 2002.

FERREIRA, C. L.L.; TESHIMA, E. Prebióticos , estratégia dietética para a manutenção da microbiota colônica desejável. **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**. Ano III, n. 16, p.22-25, Set-Out., 2000.

FOOKS, L.J.; FULLER, R.; GIBSON, G.R. Prebiotics and human gut microbiology. **International Dairy Journal**. v.9, p.53-61, 1999.

FOOKS, L.J.; GIBSON, G.R. In vitro investigations of the effect of probiotics and prebiotics on selected human intestinal pathogens. **FEMS Microbiology Ecology**. v.39, p.67-75, 2002.



FU, L., McCALLUM, S.A., MIAO, J., HART, C., TUDRYN, G.J., ZHANG, F., LINHARDT, R.J. Rapid and accurate determination of the lignin content of lignocellulosic biomass by solid-state NMR. **Fuel**. V.141, p.39-45, 2015.

FUJIKAWA, S. Effect of Xylooligosaccharide on Growth of Intestinal Bacteria and Putrefaction Products. **J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.**, v.44, p.37-40, 1991.

FUKUSHIMA, S. R.; HATFIELD, R. D. Espectros de duas formas de lignina obtidos por ressonância magnética nuclear. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v.38, n.4, p.505-511, 2003.

FULLER, R. Probiotics in man and animals. **Journal of applied Bacteriology**. v.66, p.365-378, 1989. Apud: **International dairy journal**. v.1, p.1-17, 2001.

FURLAN, S.A. et al.. Mushroom strains able to grow at high temperatures and low pH values. **World Journal of Microbial Biotechnology**. v.13, n.6, p.689-692,1997.

GALANTE, Y. M.; DE CONTI, A.; MONTEVERDI, R. Application of *Trichoderma* enzymes in food and feed industries In: Harman, G. F.; Kubicek, CP (Ed), **Trichoderma & Gliocladium – Enzymes, biological control and commercial applications**. Taylor & Francis, London, p.311-342, 1998.

GALLAHER, D.D.; KHIL, J. The effect of synbiotics on colon carcinogenesis in rats. **Journal of nutrition**, 129(Suppl.), 1483S-1487S, 1999.

GARRO, A.S.; VALDEZ, G.F.; GIORI, G.S. Temperature effect on the biological activity of *Bifidobacterium longum* CRL 849 and *Lactobacillus fermentum* CRL 251 in pure and mixed cultures grown in soymilk. **Food Microbiology**. v. 21, p.511-518, 2004.

GARROTE, G.; DOMÍNGUEZ, H.; PARAJÓ, J.C. 'Mild Autohydrolysis: An Environmentally Friendly Technology for Xylooligosaccharide Production from Wood' in **J. Chem. Technol. Biotechnol.** v.74, p.1101-1109, 1999.

GARZILLO, A. M. V. et al. Hydrolytic properties of extracellular cellulases from *Pleurotus ostreatus*. **Applied and Environmental Microbiology**. v. 42, p.476-481,1994.

GIBSON, R.G. Prebiotics. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**. v.18, p.287-298, 2004.

GIMENEZ, P.M.A. **Efeito do teor de lactose e do tipo de cultura na acidificação e pós-acidificação de iogurtes**. Campinas. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas. p.86, 2002.

GLAZER, A. N.; NIKAIDO, H. Microbial Biotechnology: fundamentals of applied microbiology, New York, Ed. W.H. Freeman and Company, cap.10, p.335-357, 1995.

GRAHAM, H. et al. Effect of enzyme supplementation on digestion of a barley/pollard based pig feed. **Nutrition Report International**, v.38, p.1073-1079, 1998.

GUGLIOTTA, A.M.; CAPELARI, M. Taxonomia de basidiomicetos. In: Bononi, V.L.R. (Org.). Zigomicetos, Basidiomicetos e Deuteromicetos: noções básicas de taxonomia e aplicações biotecnológicas, Instituto de Botânica, São Paulo, p.184, 1998.

GUTIERREZ, A.N.; DEBARR, D.A.; MADDOX, S.I. Production of diacetyl from whey permeate using *Lactococcus lactis subsp. Lactis*. **Journal of Fermentation and Bioengineering**. v.81 , n.2, p.183-184, 1996.

HALTRICH, D. et al. Production of fungal xylanases. **Bioresources in Technology**. v. 58, p.137-161, 1996.

HARTEMINK, R.; VANLAERE, K.M.J.; ROMBOUTS, F.M. Growth of enterobacteria on fructo-oligosaccharides. **Journal of Applied Microbiology**, Wageningnen, v.383, p.367-374, 1997.

HASMANN, F. A. et al. Optimization of beta-xylosidase recovery by reversed micelles using response surface methodology. **Electronic Journal of Biotechnology**, Valparaiso-Chile, v.6, n.2, p.153-160, 2003.

HESPELL, R.B., & COTTA, M. Degradation and utilization by *Butyrivibrio fibrisolvens* H17c of xylan with different chemical and physical properties. **Applied and Environmental Microbiology**, v.61, n.8, p. 3042-3050, 1995.

HOFRICHTER M. Review: lignin conversion by manganese peroxidase (MnP). **Enzyme and Microbial Technology**. v.30, p.454-466, 2002.

HOLT, J.G. et al. Bergey **Manual of Determinative Bacteriology**. Ninth edition, Willian & Wilkins, Baltimore, U.S.A, 1994.

HOLZAPFEL, W.H.; SCHILLINGER, U. Introduction to pre- and probiotics. **Food Research International**. v.35, p.109-116, 2002.

HUGHES, J.B.; HOOVER, D.G. Bifidobacteria: their potencial for use in American dairy products. **Food Technology**, v.45, n. 4, p. 74-83, 1991.

HURST, A.; HOOVER, D. G. Nisin. In: DAVIDSON, P. M.; BRANEN, A. L. **Antimicrobials in Foods**. 2. ed. New York: Marcel Dekker, Cap. 10, p. 369-394, 1993.

HIDAKA, H. et al. Effects of fructooligosaccharids on intestinal flora and human health. **Bifidobacterium Microflora**, Toio, v.5, p.37-50, 1986.

HIROYUKI, H.; MASAYASU, T.; TOSHIRO, S. Agent for Improving Glucose Tolerance Disorder, **Japanese Patent JP7324036**, 1995.

HYUN, C.; SHIN, H. Utilization of bovine plasma obtained from a slaughterhouse for economic production of probiotics. **Journal of Fermentation and Bioengineering**. v.86, n.1, p.34-37, 1998.

IEMBO, T.; SILVA, R.; PAGNOCCA, F.C.; GOMES, E. Production, characterization, and properties of  $\beta$ -glucosidase and  $\beta$ -xylosidase from a strain of *Aureobasidium* sp. **Appl. Biochemistry and Microbiol.** v.38 n.6, p.549-552, 2002.

IEMBO, T. et al. Purification and partial characterization of a new  $\beta$ -xylosidase from *Humicola grisea* var. *Thermoidea*. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**. v.20, n.9, p.949 -957, 2005.

IMAZUMI, K. et al. Effects of Xylooligosaccharides on Blood Scan. **LFRA Limited**, UK. Nakada, T. (1999). Bifidobacterium Bifidum Proliferation Promoting Composition Containing Xylooligosaccharide. USA Patent US 5939309, 1991.

INGRAM, L.O. et al. Enteric bacterial catalysts for fuel ethanol production. *Biotechnology in Progress*. v.15, p.855-866, 1999.

JASKARI, J. et al. Oat  $\beta$ -glucan and Xylan Hydrolysates as Selective Substrates for Bi.dobacterium and Lactobacillus Strains. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** v.49, p.175-181, 1998.

JEONG, K.J. et al. 'High-level Expression of an Endoxylanase Gene from Bacillus Sp. in Bacillus Subtilis DB104 for the Production of Xylobiose from Xylan'. **Appl. Microbiol. Biotechnol.** v.50, p.113-118, 1998.

JONG, S.C.; DONOVICK, R. Antitumoral and antiviral substances from fungi. **Advances in Applied Microbiology**. v. 34, p.183-262, 1989.

JOO, G. J. et al. Effect of Dietary Xylooligosaccharide on Indigestion and Retarding Effect of Bile Acid Movement Across a Dialysis Membrane. **Han'guk Sikip'um Yongyang Kwahak Hoechi**. v.27, p.705-711, 1998.

JUNG, H. G.; VOGEL, K. P. Influence of lignin on digestibility of forage cell wall material. **Journal of Animal Science**, Champaig, v.62, p.1703-1712, 1986.

KALL, E.E.J.; FIELD, J.A.; JOYCE, T.W. Increasing ligninolytic enzyme activities in several white-rot basidiomycetes by nitrogen-sufficient media. *Bioresources in Technology*. v.53, n.2, p.133-139, 1995.

KANEKO, S.; SHIMASAKI, T.; KUSAKABLE, I. Purification and some properties of intracellular  $\alpha$ -L-arabinofuranosidase from *Aspergillus niger* 5-16. **Biosci. Biotechnol. Biochem.**, v.57, p.1161-1165, 1993.

KAO, Y.; LIU, Y.; SHYU, Y. Identification of *Lactobacillus* spp. In probiotic products by real-time PCR and melting curve analysis. **Food Research International**. v.40, p.71-79, 2007.

KAZUYOSHI, T. et al. Production of Monosaccharide, Oligosaccharide and Solubilized Polysaccharide. **Japanese Patent JP 10117800**, 1998.

KAZUMITSU, S. et al. 'Production of food and drink', **Japanese Patent JP 9248153**, 1997.

KIRK, T.K. & FARREL, R.L. Enzymatic "combustion": The microbial degradation of lignin. **Annual Review of Microbiology**. v.41, p.465-505, 1987.

KOHARI, E.K.; AMAZONAS, M.A.L.A.; CARVALHO, F.J.P.C Potencial de crescimento micelial do fungo *Pleurotus sajor-caju* em serragem e casca de *Pinnus spp* e resíduo de infusão de erva-mate. In: **Workshop Sulamericano Sobre Usos Alternativos de Resíduos de Origem Florestal e Urbana**. Curitiba. **Anais**. Colombo: Embrapa-Florestas, p. 150-155, 1997.

KORNER, H.U.; GOTTSCHALK, D.; WIEGEL J., PULS, J. The degradation pattern of oligomers and polymers from lignocellulose. **Anal. Chim. Acta** v.163, p.55-66, 1984.

KUHAD, R.C.; SINGH, A.; ERIKSSON, K. -E.L. Microorganism and enzyme involved in the degradation of plant Fiber cell walls. In: ERIKSSON, K.-E.L., ed. **Biotechnology in the Pulp and Paper Industry. Advance. Bioch. Eg. Biotech.**, v.57, p.45-125, 1997.

KUMARAN, S.; SASTRY, C.A.; VIKINESWARY, S.; Laccase, cellulose and xylanase activities during growth of *Pleurotussajor-caju* on sago "hampas". **World Journal of Microbiology and Biotechnology**. v.13, p.43-49, 1997.

LAPPALAINEN, A. (1986). Purification and characterization of xylanolytic enzymes from *Trichoderma reesei*. **Biotechnology Applied in Biochemistry**. v.8, p.437-448, 1986.

LARSSON, S. et al. The generation of fermentation inhibitors during dilute acid hydrolysis of softwood. **Enzyme and Microbial Technology**. v. 24, p.151-159, 1999.

LEE, H. et al. Utilization of xylan by yeasts and its conversion to ethanol by *Pichia stipitis* strains. **Applied and Environmental Microbiology**. v.82, p.324-326, 1986.

LEONOWICZ, A. et al. Fungal laccase: Properties and activity on lignin, J. **Basic Microbiol.** v.41, p.185-227, 2001.

LIZARDI, V.G. et al. Cambio en la flora intestinal de ratones por la administración de bifidobacterias y jugos de girasol/Intestinal microflora changes in mice by bifidobacteria and sunflower juice. **Vet. México**. v.27, n.2, p.127-131, 1996.

LYND, L.R. et al. Microbial Cellulose Utilization: Fundamentals and Biotechnology. **Microbiology and Molecular Biology Review**. p.506-577, 2002.

LOO, J.V. et al. 'Functional Food Properties of Non-digestible Oligosaccharides: a Consensus Report from the ENDO Project (DGXII-AIRIICT94- 1095)' in **Brit. J. Nutr.** v.81, p.121-132, 1999.

LOURENS-HATTINGH. A.; VILJOEN, B.C. Yogurt as probiotic carrier food. **International Dairy Journal**. v.11, p.1-17, 2001.

MACFARLANE, G.T.; GIBSON, G.R. Carbohydrate fermentation, energy transduction and gas metabolism in the human large intestine. In: *Gastrointestinal Ecosystems and Fermentation* (MACKIE, R.I; WHITE, B.A., Eds). Chapman and Hall, London. p.269-318, 1997.

MATTILA-SANDHOLM, T. et al. Technological challenges for future probiotic foods. **International Dary Journal**, v.12, p.173-182, 2002.

MARTEAU, P.; FLORIÉ, B. Tolerance to low-digestible carbohydrates: symptomatology and methods. **British Journal of Nutrition**. v.85 (Suppl. 1), p.817-821.

MARTÍNEZ, A.T. Molecular biology and structure-function of lignin-degrading heme peroxidases. **Enzyme and Microbial Technology**. v.30. p.425-444, 2002.

MARTINS, J. F. P.; TERRA, N. N. **Curso Sobre Biotecnologia do Processamento de Salames e outros Embutidos Curados**. Universidade Federal de Santa Maria (RS), 1985.

MASAYASU, T. et al. Inhibitor of Vasodepressor and Vasopressor. **Japanese Patent JP 5194241**, 1993.

- MENEZES, C.R. **Estudo da atividade prebiótica de hidrolisados lignocelulósicos**. Campinas. tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas. p.202, 2007.
- MILAGRES, A.M.F.; MAGALHAES, P.O.; FERRAZ, A. Purification and properties of a xylanase from *Ceriporiopsis subvermispora* cultivated on *Pinus taeda*. **FEMS Microbiology Letters**. v.253, p.267-272, 2005.
- MILLER, G.L. Use of the dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**. v.31, p.426-428, 1959.
- MODLER, H.W. Bifidogenic Factors-Sources, Metabolism and Applications. in **Int. Dairy J.** v.4, p.383-407, 1994.
- MONTERO, P.; JIMENEZ-COLMENERO, F.; BORDEIRAS, J. Effect of pH and the presence of NaCl on some hydration properties of collagenous material from trout (*Salmo irideus Gibb*) muscle and skin. **J.Sci. Food Agric.**, v.54, p.137-46, 1991.
- MORALES, P. et al. Purification and characterization of a xylanase and an arabinofuranosidase from *Bacillus polymyxa*. **Enzyme Microb. Technol.**, v.17, p.424-429, 1995.
- NAKANO, H. Recent Japanese development in the enzymatic production and application of oligosaccharides; apresentado no Seminar on enzyme and bacterial technology. **Japan International Cooperation Agency**. [s.d.], Campina. 1998.
- NITSCHKE, M.; UMBELINO, D. C. **Bol. SBCTA**. Campinas. v.36, n.1, p.27-34, Jan-Jun, 2002.
- OKAZAKI, M. et al. Effect of Xylooligosaccharide on Growth of Intestinal Bacteria and Putrefaction Products. **J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.** v.44, p.41-44, 1991.
- OKAZAKI, M.; FUJIKAWA, S.; MATSUMOTO, N. Effect of Xylooligosaccharide on the Growth of Bifidobacteria. **Bifidobacteria Microflora**. v.9, p.77-86, 1990.
- OIKI, K.; SONOMOTO, K.; ISHIZAKI, A. Growth-stimulating effects of natural rubber serum on *Bifidobacterium bifidum*. **Journal of Fermentation and Bioengineering**. v.82, n.2, p.165-167, 1996.
- ONISHI, N.; KIRA, I.; YOKOZEKI, K. Galactooligosaccharide production from lactose by *Sirobasidium magnum* CBS6803. **Letters in Applied Microbiology**. v.23, p.253-256, 1996.
- OUWEHAND, A.; SALMINEN J. The health effects of culture milk products with viable and non viable bacteria. **International Dairy Journal**. v.8, p.749-758, 1998.
- OVEREND, R.P.; CHORNET, E. Fractionation of lignocellulosics by steam aqueous pretreatments. **Phil. Trans. R. Soc. Lond.**, v.321, p.523-536, 1987.
- PALMIERI, G. et al. Copper induction of laccase isoenzymes in the ligninolytic Fungus *Pleurotus ostreatus* **Appl and Environmental Microbiology**. p. 920-924, 2000.

- PANDEY, A. et al. Biotechnological potential of agro-industrial residues. II: cassava bagasse. **Bioresouce Technology**. Amsterdam, v.74, p.81-87, 2000.
- PARAJÓ, J.C. et al. Production of xylooligosaccharides by autohidrolysis of lignocellulosic materials. **Trends in Food Science & Technology**. v.15, p.115-120, 2004.
- PARAJÓ, J. C.; DOMÍNGUEZ, H.; DOMÍNGUEZ, J. M. Biotechnological production of xylitol. Part 1: interest of xilitol and fundamentals of its biosynthesis. **Bioresc. Technol.**, v. 65, p. 191-201, 1998.
- PARHAM, N.J.; GIBSON, G.R. Microbes involved in dissimilatory nitrate reduction in the human large intestine. **FEMS Microbiology Ecology**. v.31, p.21-28, 2000.
- PARKER, R.B. (1974). Probiotics, the other half of the antibiotic story. **Animal nutrition and health**. v. 6. n.1, p.43-64, 1996. Apud **International Dairy Journal**. v.9. p.32-61, 1999.
- PASCHOLATI, S.F. Fitopatógenos: arsenal enzimático. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Eds). **Manual de Fitopatologia – Princípios e Conceitos**. São Paulo: Ed. Agronômica Ceres, v.1, p. 343-64, 1995.
- PASSOS, L.M.L.; PARK, Y.K. Frutooligosacarídeos: implicações na saúde humana e utilização em alimentos. **Revista Ciência Rural**. Santa Maria, v.33, n.2, p.385-390, 2003.
- PELLERIN, P., GOSSELIN, M., LEPOUTRE, J.P., SAMAIN, E. DEBEIRE ,P.. 'Enzymatic Production of Oligosaccharides from Corncob Xylan' in Enzyme and **Microb. Technol.** 13, 617–621 392 M.J. Vasquez et al. / Trends in Food Science & Technology 11 (2000) 387–393, (1991).
- PELLERIN, P. et al. Enzymatic production of oligosaccharides from corncob xylan. **Enzyme and Microbial Technology**. v.13, p.617-621, 1991.
- PEREIRA JR, N. Biotecnologia de Hemicelulose. In: Enzitec 1999 – IV Seminário Brasileiro de Tecnologia Enzimática. 1999, Rio de Janeiro. **Anais do Enzitec 99 - IV Seminário Brasileiro de Tecnologia Enzimática**, v.1, p.1-5, 1999.
- PINPHANICHAKARN, P. et al. Purification and characterization of *b*-xylosidase from *Streptomyces* sp. CH7 and its gene sequence analysis. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**. v. 20, p.727–733, 2004.
- POINTING, S.B. Feasibility of bioremediation by white-rot fungi. **Appl Microbiol Biotechnol.** v.29, p.575-979, 2001.
- POUTANEN, K. et al. Evaluation of different microbiol xylanolytic systems. **J. Biotechnol.**, v. 6, p.49-60, 1987.
- PRADE, R.A. Xylanases: From biology to biotechnology. **Biotechnol. Gen. Eng. Rev.**, v.13, p. 101-131, 1995.
- PULS, J., SCHUSEIL, J. 'Chemistry of Hemicelluloses: Relationship Between Hemicellulose Structure and Enzymes Required for Hydrolysis' in Hemicellulose and Hemicellulases, (Coughlan, M.P. and Hazlewood, G.P., eds), pp. 1–27, Porland Press, London, UK, 1993.

- PULS, J. et al. Xylobiose and xylooligomers. *Methods in Enzimology*.v. 160, p.528-536, 1998.
- PUUPPONEN-PIMIÄ, R. et al. Development of functional ingredients for gut health. *Trends Food Sci. Technol.*, Amsterdam, v.13, p.3-11, 2002.
- QINNGHE, C. et al. Screening of culture condition and properties of xylanase by white-rot fungus *Pleurotus ostreatus*. *Process Biochemistry*. 2003.
- RASTALL, A.R. et al. Modulation of the microbial ecology of the human colon by probiotics, prebiotics and synbiotics to enhance human health: An overview of enabling science and potential applications. *FEMS Microbiology Ecology*. v.52, p.145-152, 2005.
- RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; ELCHHORN, S. E. *Biologia Vegetal*. Editora Koogan, ed. 6, p.928, 2001.
- REDDY, G.V. et al. Utilization of banana waste for the production of lignolytic and cellulolytic enzymes by solid substrate fermentation using two *Pleurotus* species (*P.ostreatus* and *P. sajor-caju*). *Process of Biochemistry*. v.38, p.1457-1462, 2003.
- RINGLING, D.; VAN ALFEN, N.K. Extra and intracelular laccases of the Chestnut Blight fungus, *Cryphonectria parasitica*. *Appl. Environ. Microbiol.* v.59, p.3634-3639, 1993.
- RIZZATTI, A.C.S. Estudo das atividades xilanásica e  $\beta$ -xilosidásica produzida pelo fungo termotolerante *Aspergillus phoenicis*. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – FMRP, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, p. 108, 2000.
- ROBERFROID, M.B. Health benefits of non-digestible oligossaccharides. *In Adv Exp. Med. Biol.* v.427, p.211-219, 1997.
- ROBERFROID, M. Dietary fiber, inulin, and oligosaccharides: a review comparin their physiological effects. *Crit Rev Food Sci Nutr*, Cambridge, Inglaterra, v.33, n.2, p.103-108, 1993.
- ROBSON, L.; CHAMBLISS, G. Cellulases of bacterial origin. *Enzyme Microb. Techn.*, v.11, p.626, 1989.
- RODRIGUES, M.I.; IEMMA, A.F. Plajejamento de experimentos e otimização de processos: uma estratégia seqüencial de planejamentos. Campinas, SP: Casa do Pão Editora, 1ª ed. 2005.
- ROTHSCHILD, N. et al. 2002. Ligninolytic enzymes of the fungus *Irpex lacteus* (Polyporus tulipiferae): isolation and characterization of lignin peroxidase. *Enzyme and Microbial Technology*. v.31, p.627-633, 2002.
- RUST, R. E. Productos Embutidos. In: PRICE, J. F., SCHWEIGERT, B. S. *Ciencia de La Carne y de Productos Carnicos*. 2. ed. Zaragoza (Espanha): Acríbia, 1994.
- SAAD, S.M.I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* v. 42, n.1, Jan.-Mar., 2006.
- SACHSLEHNER, A. et al. Induction of mannanase, xylanase, and endoglucanase activities in *Aclerotium rolfsii* *appl and Environmental Microbiology*. p.594-600, 1997.

SAITO, I.M. Produção de hidrolisados e fibras a partir de resíduo da industrialização da mandioca submetido a pré-tratamento hidrotérmico. Tese de doutorado. Unesp, 2005.

SAKO, T.; MATSUMOTO, K.; TANAKA, R. Recent progress on research and applications of non-digestible galacto-oligosaccharides. **International Dairy Journal**. v.9, p.69-80, 1999.

SANDERS, M.E. Overview of functional foods: emphasis on probiotic bacteria. **Int. Dairy J.**, Amsterdam, v.8, p.341-347, 1998.

SANDERS, M.E.; KLAENHAMMER, T.R. Invited review: the scientific basis of *Lactobacillus acidophilus* NCFM functionality as a probiotic. **J. Dairy Sci.**, Savoy, v.84, p.319-331, 2001.

SCALABRINI, P. et al. Characterization of *Bifidobacterium* strains for use in soymilk fermentation. **International Journal of Food Microbiology**. v.39, p.213-219, 1998.

SCHEPPACH, W.; LUEHRS, H.; MENZEL, T. Beneficial health effects of low-digestible carbohydrate consumption. **British Journal of Nutrition**. v.85 (Suppl. 1), p.823-930, 2001.

SCHOEMAKER, H. E. et al. On the mechanism of enzymatic lignin breakdown. **FEBS Letters**. v.183, p.7-12, 1985.

SCHUCHARDT, U.; RIBEIRO, M.L. A Indústria Petroquímica no Próximo Século: Como Substituir o Petróleo como Matéria-prima? **Química Nova**, v.24, p. 247-251, 2001.

SERMANNI, G.G. et al. The production of exo-enzymes by *Lentinus edodes* and *Pleurotus ostreatus* and their use for upgrading corn straw. **Bioresource Technology**. v.48, n.2, p.173-178, 1994.

SETHURAMAN, A.; AKIN, D.E.; ERIKSSON, K.E.L. (1998). Plantcell-wall-degrading enzymes produced by the white-rot fungus *Ceriporiopsis subvermispora*. **Biotechnology and Applied Biochemistry**. v. 27, p.37-47, 1998.

SHAN, V.; NERUD, F. Lignin degrading system of white-rot fungi and its exploitation for dye decolorization. **Can. J. Microbiol.** v.48, p. 857-870, 2002.

SHAO, W.; WIEGEL, J. Purification and characterization of two thermostable  $\beta$ -xylosidase from *Thermoanaerobacter ethanolicus*. **J. Bacteriol.**, v.174, p.5848-5853, 1995.

SHISHIDO, K. The application of molecular genetics to oriental mushrooms. **In: KINGHORN, J.R.; TURNER, G. (Eds) Applied molecular genetics of filamentous fungi**. London: Blackie Academic and Professional, Chap.9, p.201-213, 1992.

SINGHA, S.; PILLAY, B.; PRIOR, B.A. Thermal stability of  $\beta$ -xylanases produced by different *Thermomyces lanuginosus* strains. **Enzyme and Microbial Technology**. v.26, p.502-508, 2000.

SILVA, E.R. Biodegradação fúngica de resíduos agroindustriais para a produção de biomassa microbiana, enzimas ligninocelulolíticas e redução de fitatos. **UNICAMP**. Campinas, SP:[s.n], 2001.

SINGH, S. et al. Isozyme Polymorphism of cellulases in *Aspergillus terreus*. **J. Basic Microbiol.** v.36, p.289-296, 1996.



- SIQUEIRA, R. S. Manual de Microbiologia de alimentos. Rio de Janeiro: **EMBRAPA – CTAA**, 1995.
- SOUZA-CRUZ, P.B. et al. Extraction and determination of enzymes produced by *Ceriporiopsis subvermispota* during biopulping of *Pinus taeda* wood chips. *Enzyme and Microbial Technology*. v.34, p.228–234, 2004.
- SPIEGEL, J.E. et al. Safety and benefits of fructooligosaccharides as food ingredients. **Food Techn**, Boston, v.48, p.85-89, 1994.
- STAMFORD, T.L.M. Alimentos Probióticos – Uma Revisão. **Higiene Alimentar**. v.14, n.68-69, Jan.-Fev., 2000.
- STEYN, D.G. H. In: BIRCH, G.G., GREEN, L.F. (ed.) Molecular structure on function of food carbohydrate. New York, Toronto: John Wiley & Sons, p.35. 207, 1973.
- SUBRAMANIYAN, S.; PREMA, P. Cellulase-free xylanases from *Bacillus* and other microorganisms. *FEMS Microbiology Letters*. v. 183, p.1-7, 2000.
- SUN, R.C.; TOMKINSON, J.; & LIANG, S.F. Comparative study of hemicelluloses from rice straw by alkali and hydrogen peroxide treatments. *Carbohydrate Polymers*. v.42, p.111-122, 2000.
- SUNNA, A.; ANTRANIKIAN, G. Xylanolytic enzymes from fungi and bacteria. **Crit. Rev. Biotech.**, v.17(1), p.39-67, 1997.
- SUWA, Y. et al. 'Bifidobacterium Bifidum Proliferation Promoting Composition Containing Xylooligosaccharide', **USA Patent US 5939309**, 1999.
- TAEKO, I. et al. Food and Drink Effective in Anti-obesity. **Japanese Patent JP 10290681**, 1998.
- TAKAO, Y.; YOSHIO, I. 'Production of Gruel-like Extract Containing Xylooligosaccharide and Food Containing the Extract and Production of Xylooligosaccharide', **Japanese Patent JP 8103287**, 1996.
- TAMINE, A.; MARSHALL, V.; ROBINSON, R. Microbiological and technological aspects of milks fermented by bifidobacteria. **Journal of Dairy Research**. v.62, p.151-187, 1995.
- TECHAPUN, C. et al. Optimization of thermostable and alkaline-tolerant cellulose-free xylanase production from agricultural waste by thermotolerant *Streptomyces* sp Ab106, using the central composite experimental design. *Biochemical Engineering Journal*. v.12, p.99-105, 2002.
- TENKANEN, M. et al. Synergism of xylanolytic enzymes of *Trichoderma reesei* in the degradation of acetyl-4-O-methylglucuronoxylan. In: E. Srebotnik & K. Messner, *Biotechnology in the pulp and paper industry*, Vienna: Facultas-Universitätsverlog, 1996.
- THOMAS, G.M. et al. Evaluation of lignocellulosic biomass from coconut palm as substrate for cultivation of *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, London, v.14, n.6, p.879-882, Nov., 1998.
- TIEN, M.; KIRK, T.K. Lignin-degrading enzyme from *Phanerochaete chrysosporium*: purification, characterization, and catalytic properties of a unique H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-requiring oxygenase. **Proceedings of the National Academy of Science**. v.81, p. 2280-2284, 1984.

- TOMME, P. et al. Cellulose-binding domains: classification and properties. **ACS Symposium Series**. v.618. p.143-163, 1995.
- TOSHIO, I. et al. Production of Xylobiose. **Japanese Patent JP 2119790**, 1990.
- TUOMELA, M. et al. Biodegradation of lignin in a compost environment: a review. **Bioresource Technology**. v.72, p.169-183, 2000.
- VALASKOLÁ, V.; BALDRIAN, P. Estimulation of bound and free fractions of lignocellulose-degrading enzymes of wood-rotting fungi *Pleurotus ostreatus*, *Trametes versicolor* and *Piptoporus betulinus*. **Research in Microbiology**. (2005).
- VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. Ithaca: Cornell University Press, p.476, 1994.
- VÁZQUEZ, M.J. et al. Xylooligosaccharides: manufacture and applications. **Trends in Food Science & Technology**. v.11 p.387-393, 2000.
- VELAZQUEZ, M.; FEITARG, J. M. Isolation and partial physiological characterization of commercial strains of bifidobacteria. **Journal of Food Protection**. v.60, n.5, p.537-543, 1997.
- VERELLEN, J.L.T. et al. Fermentation optimization of planaricin 423, a bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* 423. **Applied and Environmental Microbiology**. v.86, n.2, p.174-179, 1998.
- VICENTE, N.E.V. Biodegradação de bagaço de cana de açúcar por linhagens/espécie de *Pleurotus spp* e avaliação nutricional para ruminantes. **Tese de Doutorado**. Unicamp. Campinas, SP: [s.n.], 2002.
- VIKARI, L. et al. Xylanases in bleaching: From an idea to the industry. **FEMS Microbiol. Rev.**, v.13, p.335-350, 1994.
- VIKINESWARY, S. et al. Productivity of laccase in solid substrate fermentation of selected agro-residues by *Pycnoporus sanguineus*. **Bioresource Technology**. v.97, p.171-177, 2005.
- VRIES de, R.P.; VISSER, J. Aspergillus Enzymes Involved in Degradation of Plant Cell Wall Polysaccharides. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**. v.65, n.4, p.497-522, 2001.
- WANG, S. H.; ASCHERI, J.L.R. Iogurte de soja: fermentação láctica e avaliação sensorial. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**. v.11, n.2, p. 221-238, 1991.
- WITHERS, S. G. Mechanisms of glycosyl transferases and hydrolyses. **Carbohydr. Polym.** v.44, p.325-337, 2001.
- WOLF, B.W. et al. Oral Rehydration Solution Containing Indigestible Oligosaccharides. USA Patent US 5733579, 1998.
- WONG, K.K.Y.; SADDLER, J.N. *Trichoderma* xylanases, their properties and application. **Critical Review in Biotechnology**. v.12, p.413-435, 1992.
- WONG, K.K.Y.; TAN, L.U.L.; SADDLER, J.N. Multiplicity of  $\beta$ -1,4-xylanase in Microorganisms: functions and applications. **Microbiol. Rev.**, v.52, p.305-317, 1988.

WONG, K.K.Y.; SADDLER, J.N. Applications of hemicellulases in the food, feed, and pulp and paper industries. In: Coughlan, M.P. & Hazlewood, G.P. (Eds). **Hemicelluloses and Hemicellulases**. Portland Press, London, p. 127-143, 1993.

WOOD, T.M.; GARCIA-CAMPAYO, V. Enzymes and mechanisms involved in microbial cellulolysis In: Ratledge, C. (Ed.). **Biochemistry of Microbial Degradation**. Kluwer Academic Publishers. Netherlands. p.590, 1994.

YADAV, H.; JAIN, S.; SINHA, P.R. Antidiabetic effect of probiotic dahi containing *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* in high fructose fed rats. **Nutrition**. v.23, p.62-68, 2007.

YAMASHITA, K.; KAWAI, K.; ITAKAMURA, M. Effects of fructooligosaccharids on blood-glucose and serum lipids in diabetic subjects. **Nutrition Research**, Fukuoka, v.4, p.961-966, 1984.

YUN, J.W. Fructooligosaccharides - Occurrence, preparation and applications. **Enzymes and Microbial Technology**, Kyungbug, v.19, p.107-117, 1996.

ZIEGLER, I. M. et al. Mechanism of the adsorption process of pinosylvin and some polyhydroxybenzenes onto the structure of lignin. **Vibrational Spectroscopy**. v.36, p.65-72, 2004.

ZIEMER, C.J.; GIBSON, G.R. 'An Overview of Probiotics, Prebiotics and Synbiotics In the Functional Food Concept: Perspectives and Future Strategies' in **Int. Dairy J.** v.8, p.473-479, 1998.