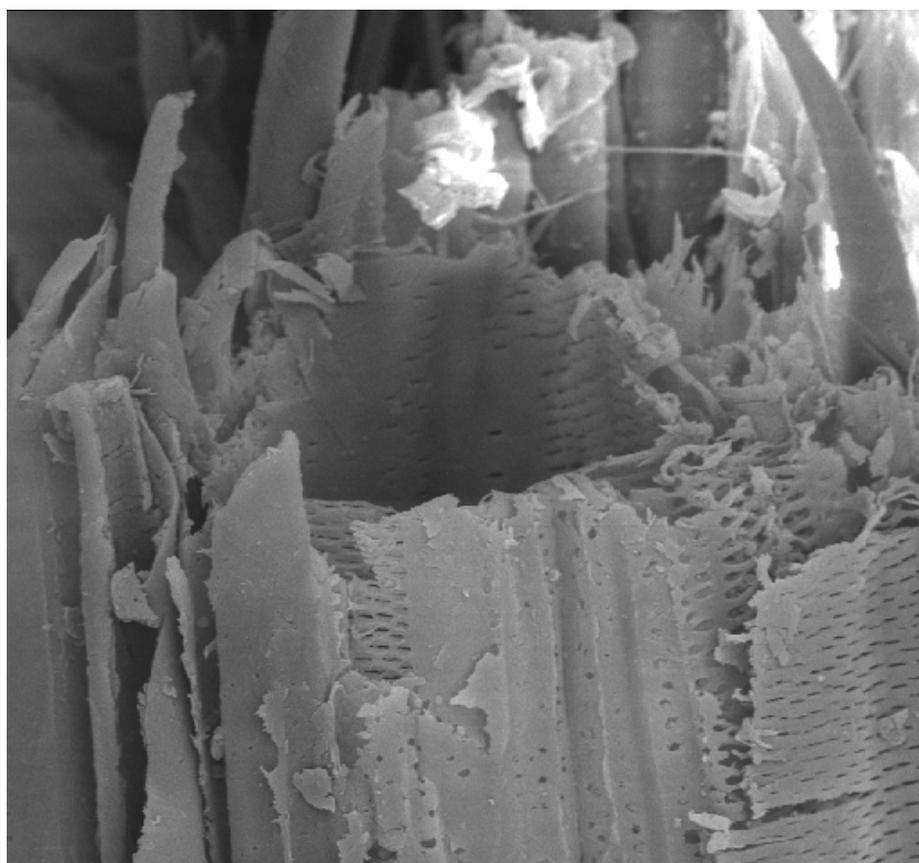


Documentos

54

A Parede Celular Vegetal E As Enzimas Envolvidas Na Sua Degradação



ISSN 1518-7179

Dezembro, 2011

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Instrumentação
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Documentos 54

A Parede Celular Vegetal E As Enzimas Envolvidas Na Sua Degradação

Cristiane Sanchez Farinas

Embrapa Instrumentação
São Carlos, SP
2011

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Instrumentação

Rua XV de Novembro, 1452
Caixa Postal 741
CEP 13560-970 - São Carlos-SP
Fone: (16) 2107 2800
Fax: (16) 2107 2902
www.cnpdia.embrapa.br
E-mail: sac@cnpdia.embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: João de Mendonça Naime
Membros: Débora Marcondes Bastos Pereira Milori,
Sandra Protter Gouvea
Washington Luiz de Barros Melo
Valéria de Fátima Cardoso
Membro Suplente: Paulo Sérgio de Paula Herrmann Junior

Supervisor editorial: Victor Bertucci Neto
Revisão de texto: Raíra Valente
Normalização bibliográfica: Valéria de Fátima Cardoso
Tratamento de ilustrações: Foco Comunicação
Imagem Capa: Ursula Fabiola Rodríguez Zúñiga
Editoração eletrônica: Foco Comunicação

1ª edição

1ª impressão (2011): tiragem 300

Todos os direitos reservados.

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte,
constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

CIP-Brasil. Catalogação-na-publicação.

Embrapa Instrumentação

F225p

Farinas, Cristiane Sanchez

A parede celular vegetal e as enzimas envolvidas na sua degradação. / Cristiane Sanchez
Farinas. -- São Carlos: Embrapa Instrumentação, 2011.
13 p. -- (Embrapa Instrumentação. Documentos, ISSN: 1518-7179; 54).

1. Bioquímica. 2. Enzimas. 3. Parede celular vegetal. 4. Hidrólise enzimática. 5. Celulases.
6. Hemicelulases. I. Título. II. Série.

CDD 21 ED. 572.7

© Embrapa 2011

Autora

Cristiane Sanchez Farinas,
Engenharia Química, D.SC.,
Pesquisadora,
Embrapa Instrumentação,
C.P. 741, CEP 13560-970,
São Carlos SP,
cristiane@cnpdia.embrapa.br

Apresentação

A biomassa vegetal é a fonte mais abundante de carbono orgânico do planeta. No entanto, a elevada recalcitrância da parede celular vegetal dificulta o acesso das enzimas envolvidas na sua degradação. O entendimento da estrutura da parede celular vegetal e de como atuam as enzimas que degradam os polissacarídeos em açúcares fermentescíveis é de fundamental importância na viabilização do uso da biomassa vegetal como fonte de energia renovável. Este trabalho apresenta uma contribuição da Embrapa Instrumentação para o desenvolvimento de tecnologias relacionadas às enzimas envolvidas na degradação da biomassa vegetal.

Luiz Henrique Capparelli Mattoso
Chefe Geral

Sumário

Apresentação	5
Introdução	7
A Parede celular vegetal	7
As enzimas envolvidas na degradação da biomassa vegetal	9
Celulases	10
Hemicelulases	11
Conclusões	12
Referências	13

A Parede Celular Vegetal E As Enzimas Envolvidas Na Sua Degradação

Cristiane Sanchez Farinas

Introdução

Uma quantidade significativa de esforços em pesquisa vem sendo atualmente focada no desenvolvimento de tecnologias para a produção de biocombustíveis e outros produtos de interesse comercial a partir biomassa vegetal, dentro do conceito de biorrefinarias. Isso se justifica no fato de que a maioria do carbono fixado fotossinteticamente é incorporada aos polímeros da parede celular vegetal, tornando esse material a fonte mais abundante de biomassa terrestre. A produção de energia renovável a partir da biomassa vegetal também atende a vários requisitos de sustentabilidade, destacando a redução nas emissões dos gases do efeito estufa, sendo uma potencial alternativa para substituir parcialmente os combustíveis fósseis. Além disso, o material da parede celular vegetal é também de grande importância para nutrição humana e de animais, e como fonte de fibras naturais para as indústrias têxteis e de papel e celulose. Por estas razões, o estudo da parede celular vegetal é de grande interesse tanto do ponto de vista da ciência básica, como da ciência aplicada.

A parede celular vegetal é composta por uma mistura de polissacarídeos, proteínas, compostos fenólicos e sais minerais. Os polissacarídeos representam cerca de 90% do peso seco da parede e consistem em celulose, que compõe de 20 a 40% da parede celular, hemiceluloses (15-25%) e pectinas (~30%). Essa matriz é altamente ordenada e dinâmica podendo tornar-se mais rígida ou mais frouxa conforme as necessidades da planta (BUCKERIDGE, 2010). Além dos polissacarídeos, a parede celular é também impregnada pela lignina, um polímero aromático que fornece rigidez a planta.

Embora a biomassa vegetal seja muitas vezes considerada como tendo uma composição uniforme, pode haver uma substancial diversidade na sua composição. Em primeiro lugar, as diferentes espécies de plantas têm significativas diferenças nas proporções de celulose, hemicelulose e lignina, e ainda, diferenças nos tipos de hemiceluloses e/ou lignina presentes. Além dessas diferenças entre as espécies, a composição média de uma única espécie pode conter distintas proporções entre os componentes da parede, e às vezes diferenças qualitativas em seus componentes (PAULY; KEEGSTRA, 2010). A composição química da biomassa também varia em função de diversos outros fatores, incluindo as condições ambientais durante o crescimento, bem como o método de colheita e armazenamento. Além disso, muitas das fontes de biomassa usadas como matérias-primas dos processos de conversão são resíduos provenientes de outros processos. Isso introduz outra variável relacionada à eficiência do processo original como uma fonte adicional de variabilidade na composição da biomassa vegetal (FARINAS et al., 2010).

Compatível com a diversidade na composição da biomassa vegetal, os microrganismos lignocelulolíticos evoluíram inúmeras estratégias para atacar os componentes da parede celular, apresentando assim um arsenal enzimático capaz de realizar a degradação da biomassa vegetal. Tais microrganismos secretam coquetéis enzimáticos que são freqüentemente otimizados para cada substrato. Esses coquetéis enzimáticos possuem celulasas, hemicelulasas, pectinases, ligninases e outras enzimas acessórias atuando de forma sincronizada e sinérgica na degradação da biomassa vegetal.

No entanto, apesar da parede celular das plantas ser a fonte mais abundante de carbono orgânico do planeta, a elevada recalcitrância dessa biomassa vegetal dificulta o acesso das enzimas envolvidas na sua degradação. Nesse contexto, o entendimento da estrutura da parede celular vegetal e de como atuam as enzimas que degradam os polissacarídeos em açúcares fermentescíveis é de fundamental importância na viabilização do uso da biomassa vegetal como fonte de energia renovável.

A Parede celular vegetal

Uma das características principais da célula vegetal é a presença de uma fina, porém muito resistente, parede celular. A parede celular vegetal é formada por uma mistura complexa de polissacarídeos e outros compostos secretados pela célula e que são dispostos e conectados de uma forma muito bem organizada através de ligações covalentes e não-covalentes (TAIZ; ZIEGER, 2002)

Podemos distinguir dois tipos de parede celular vegetal, a parede celular primária e a secundária. A parede primária é depositada durante o crescimento celular, e deve ser ao mesmo tempo mecanicamente estável e suficientemente flexível para permitir a expansão das células, evitando sua ruptura. As paredes celulares primárias consistem principalmente de polissacarídeos como celulose, hemiceluloses e pectinas. Já a parede celular secundária é depositada após cessar o crescimento celular e confere estabilidade mecânica a planta. A parede secundária apresenta compostos de celulose e hemicelulose, e que são muitas vezes impregnados de lignina. Além dos polissacarídeos, a parede das células vegetais contém centenas de diferentes proteínas. (TAIZ; ZIEGER, 2002)

A Parede Celular Vegetal E As Enzimas Envolvidas Na Sua Degradação Um dos principais componentes da parede celular, a celulose, é um homopolissacarídeo não-ramificado constituído unicamente por moléculas de glicose unidas entre si por ligações glicosídicas do tipo β -1,4. Duas unidades de glicose adjacentes formam uma ligação glicosídica através da eliminação de uma molécula de água (Fig. 1). Devido à configuração espacial alternada das ligações glicosídicas, a unidade de repetição da celulose é a celobiose, um dissacarídeo.



Fig. 1. Moléculas de glicose unidas entre si por ligações glicosídicas do tipo β -1,4, mostrando o sistema de numeração dos carbonos e a configuração da ligação glicosídica (Adaptado de TAIZ; ZIEGER, 2002).

A estrutura da celulose apresenta regiões cristalinas altamente ordenadas, estabilizadas por ligações de hidrogênio intra e intermoleculares e regiões menos ordenadas ou amorfas onde as cadeias apresentam uma orientação randomizada (Fig. 2).

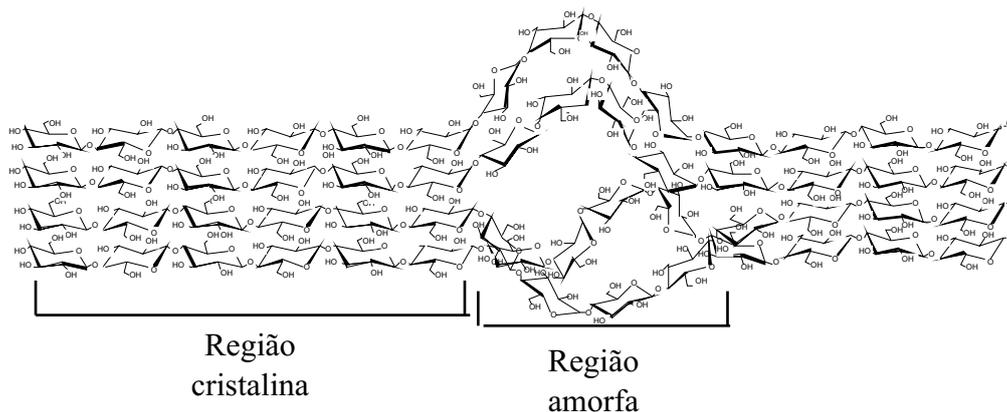


Fig. 2. Estrutura da celulose destacando as regiões cristalinas e amorfas.

As pontes de hidrogênio intra e intermoleculares formadas entre as longas cadeias de celulose originam as microfibrilas de celulose, que formam um conjunto de agregados insolúveis em água (FENGL; WEGENER, 1989). As microfibrilas podem variar em comprimento, largura e grau de ordenação. Por exemplo, as microfibrilas de plantas terrestres apresentam entre 5 e 12 nm de largura, enquanto que as microfibrilas de algas podem chegar a 30 nm de largura. As microfibrilas podem ser longas o suficiente (entre 1 a 5 μ m) para apresentar regiões cristalinas e amorfas (TAIZ; ZIEGER, 2002).

Já as hemiceluloses são heteropolissacarídeos formados por vários resíduos de açúcares pentoses (xilose e arabinose) e hexoses (glicose, manose e galactose), ácidos urônicos e grupos acetila. Esses açúcares estão ligados entre si, principalmente por ligações glicosídicas β -1,4, formando uma estrutura principal composta por um tipo específico de resíduo, a partir da qual surgem ramificações laterais de cadeias curtas de outros compostos. As hemiceluloses são classificadas de acordo com o açúcar predominante na cadeia principal e na ramificação lateral. As principais hemiceluloses encontradas em plantas são os xiloglucanos (XyG), os glucuronoarabinoxilanos (GAX) e os mananos (MN). Em todos os casos, há uma cadeia principal de monossacarídeos de glicose, xilose e manose, respectivamente, que pode ser ramificada com diferentes monossacarídeos (Fig. 3). Os XyG são os mais abundantes, encontrados na maioria das eudicotiledôneas. Os GAXs ocorrem em maior proporção em paredes celulares de gramíneas (família Poaceae) e os MN são de ampla ocorrência, mas geralmente aparecem em baixa proporção (BUCKERIDGE, 2010).

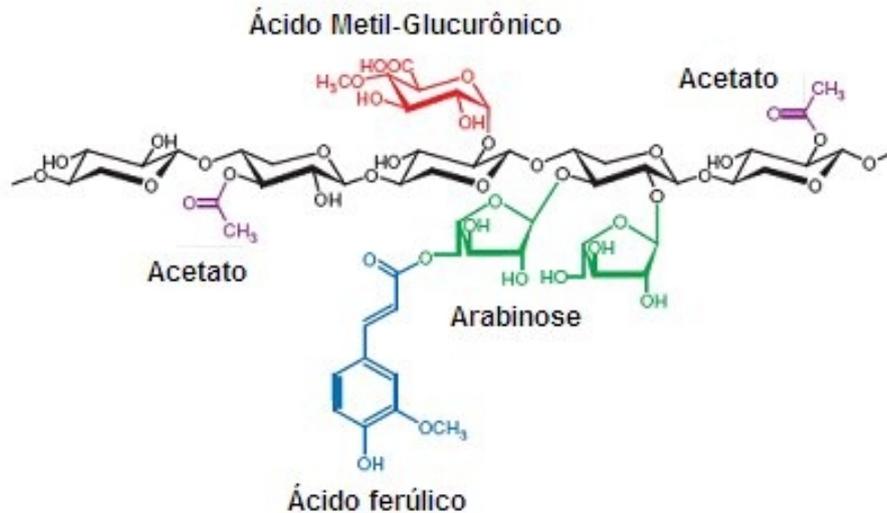


Fig. 3. Estrutura típica da hemicelulose mostrando as diferentes ligações e compostos encontrados nas ramificações (Adaptado de DODD; CANN, 2009).

Outro biopolímero presente nas plantas, a lignina, pode representar até 25% de toda a biomassa lignocelulósica produzida no planeta e seu teor nos resíduos vegetais pode atingir até 40% do seu peso seco. A lignina está concentrada em tecidos relacionados com condução de solutos e suporte mecânico e representa um conjunto de polímeros amorfos, de alto peso molecular e muitas ligações cruzadas. Possui natureza química bem distinta dos carboidratos, sendo caracterizada por uma estrutura aromática de natureza eminentemente fenólica. As unidades monoméricas precursoras da lignina são hidroxilas fenólicas dos alcoóis trans-p-cumarílico, trans-coniferílico e álcool trans-sinapílico (FENGEL; WEGENER, 1989), cuja representação química pode ser observada na Figura 4.

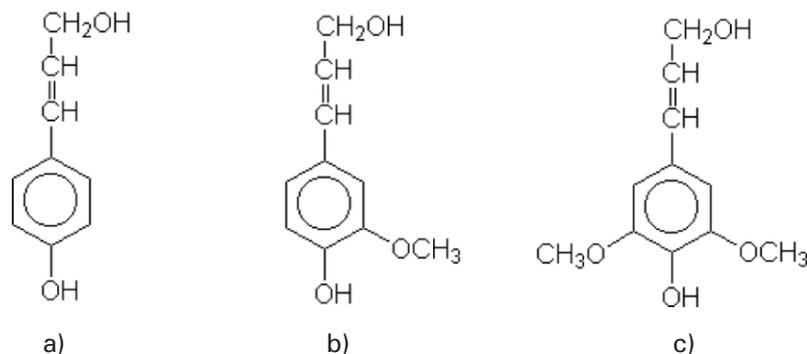


Fig. 4. Monômeros precursores da lignina (a) álcool trans-para-cumárico, (b) álcool trans-coneiférico e (c) álcool trans-sinapílico.

Devido à natureza fenólica da lignina, essa fração não pode ser diretamente convertida em etanol. A lignina tem sido usada para a produção de energia pelo processo de combustão (LARSEN et al., 2008) ou para a conversão em outros bioprodutos de interesse comercial.

As enzimas envolvidas na degradação da biomassa vegetal

Muitos microrganismos desempenham um importante papel na conversão da biomassa vegetal produzindo verdadeiros coquetéis enzimáticos capazes de degradar os componentes da parede celular. Esse complexo de enzimas é necessário devido à elevada recalcitrância da biomassa, sendo que esses coquetéis enzimáticos possuem celulases, hemicelulases, pectinases, ligninases e outras enzimas acessórias atuando de forma sincronizada e sinérgica no processo de degradação. No entanto, somente as celulases e hemicelulases serão abordadas aqui neste artigo, uma vez que a celulose e hemicelulose são os principais componentes da parede celular que podem ser convertidos em açúcares fermentescíveis, servindo de substrato para os microrganismos na produção industrial de biocombustíveis.

Recentemente, as enzimas que atuam sobre os carboidratos presentes na biomassa, juntamente com seus respectivos módulos de ligação a carboidratos (MLC), foram agrupadas em famílias com base na suas respectivas seqüências e as informações depositadas em um banco de dados chamado Carbohydrate-Active EnZymes (Cazy) (CANTAREL et al., 2009¹). Atualmente, 44 das 115 famílias de glicosil hidrolases (GHs) contêm enzimas que contribuem para a desconstrução da parede celular vegetal. A estrutura cristalina de enzimas relevantes em 41 dessas 44 famílias já foram elucidadas (GILBERT, 2010).

Celulases

O mecanismo de hidrólise enzimática da celulose mais aceito atualmente descreve a ação sinérgica de pelo menos três classes de enzimas: as endoglucanases, as exoglucanases e as β -glucosidases ou celobiases (ZHANG; LYND, 2004). A Figura 5 apresenta o esquema de atuação das três classes de enzimas. A primeira tem ação randômica, causando mudança rápida no grau de polimerização através da hidrólise das ligações glicosídicas β -1,4 intramoleculares da cadeia de celulose. A exoglucanase é ativa sobre celulose cristalina, liberando celobiose a partir dos terminais da cadeia. Já a celobiase hidrolisa ligações glicosídicas β -1,4 da molécula de celobiose e de pequenos oligossacarídeos, com liberação de glicose (ZHANG et al., 2006).

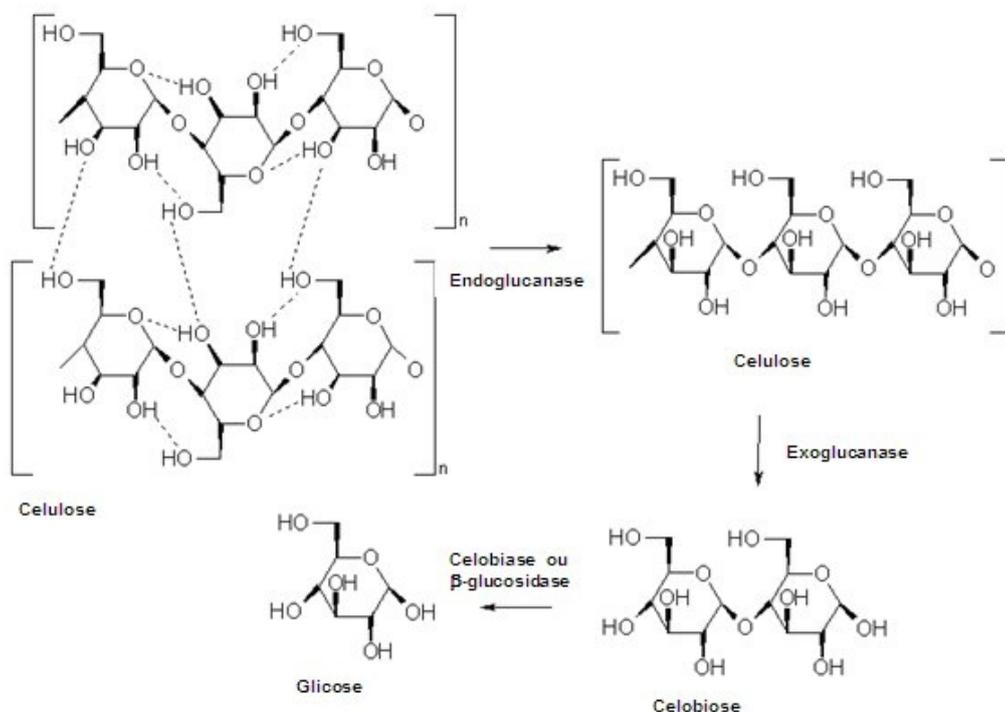


Fig. 5. Sinergismo entre endoglucanases, exoglucanases e celobiases na degradação da estrutura da celulose.

As endoglucanases possuem como nome sistemático, segundo a IUBMB – International Union of Biochemistry and Molecular Biology, 1,4- β -D-glucana-4-glucanohidrolases, mas também podem ser referenciadas na literatura como CMCase. Essas são as enzimas do complexo celulósico responsáveis por iniciar a hidrólise. Tais enzimas hidrolisam randomicamente as regiões internas da estrutura amorfa da fibra celulósica, liberando oligossacarídeos (LYND et al., 2002).

Já as exoglucanases ou avicelases são enzimas que atuam na porção cristalina da molécula de celulose e catalisam a hidrólise de ligações β -1,4-D-glicosídicas na celulose, liberando celobiose das extremidades das cadeias. As exoglucanases são também conhecidas como celobiohidrolases (CBH). A CBH ainda pode ser dividida em dois tipos: enzima do tipo I (CBH I), que hidrolisa terminais redutores, enquanto que a do tipo II (CBH II) hidrolisa terminais não redutores. Essas enzimas geralmente sofrem inibição pelo seu produto de hidrólise (celobiose) (CASTRO; PEREIRA Jr., 2010).

O terceiro e último grande grupo das enzimas do complexo celulolítico engloba as enzimas β -glicosidásicas, ou β -glicosídeo glucohidrolases, que é seu nome sistemático. As β -glicosidases têm a propriedade de hidrolisar celobiose e oligossacarídeos solúveis em glicose. Assim como as celobiohidrolases, também são reportadas por sofrerem inibição por seu produto de hidrólise (LYND et al., 2002).

¹<http://www.cazy.org/>

As celulasas são enzimas que possuem massas moleculares relativamente elevadas, e, em geral, se apresentam na forma glicosilada, com um teor de carboidratos que pode variar de cerca de 1% até 50% da massa total da enzima. A estrutura dessas enzimas pode ser dividida em três regiões: o domínio catalítico (DC), que abrange cerca de 90% do número total de aminoácidos da seqüência peptídica e é a localização da molécula onde a catálise efetivamente ocorre; a região de ligação (RL), na qual está contida uma quantidade pequena de aminoácidos, no entanto altamente glicosilados, cuja função é apenas a de ligar o domínio catalítico à terceira região, que compreende o módulo de ligação a carboidratos (MLC) (CASTRO, 2006).

As principais funções dos MLCs são: (1) aproximar e manter a enzima próxima à superfície do substrato de forma a aumentar a taxa de degradação do polissacarídeo, (2) aumentar a especificidade da enzima na atuação de regiões seletivas da molécula de substrato e, (3) romper interações químicas da cadeia do substrato, especialmente se essa se apresentar com elevada cristalinidade (CASTRO, 2006).

Sistemas celulolíticos completos são produzidos por vários microrganismos, como bactérias e fungos. As bactérias celulolíticas incluem espécies aeróbias, como *Pseudomonas* e actinomicetos, anaeróbias facultativas, como *Bacillus* e *Cellulomonas* e anaeróbias estritos, como *Clostridium*. A produção de celulasas por fungos é amplamente disseminada na natureza, incluindo uma grande variedade de espécies, tais como *Trichoderma*, *Penicillium* e *Aspergillus*. Vários trabalhos têm sido direcionados para a seleção ou desenvolvimento de microrganismos produtores de celulasas, incluindo programas baseados em seleção natural e mutagenesis e também a produção de microrganismos geneticamente modificados (FARINAS et al., 2008; DILLON et al., 2006).

O fungo *Trichoderma reesei* tem sido o microrganismo mais estudado, pois produz altas concentrações do complexo enzimático hidrolítico. No entanto, a quantidade de celobiose contida no complexo é relativamente baixa, acarretando uma desvantagem do ponto de vista do processo de sacarificação (KIM et al., 1997). Nesse sentido, a utilização do fungo *Aspergillus niger* tem sido apontada como alternativa para superar esta desvantagem, podendo ser avaliada em fermentações com culturas simples ou em co-culturas (FARINAS et al., 2008).

As celulasas têm uma ampla variedade de aplicações industriais, sendo utilizadas como aditivo no preparo de enzimas digestivas, como componente de detergentes, no clareamento e amaciamento de fibras têxteis, no tratamento de águas residuais, na indústria de alimentos para aumentar o rendimento da extração de amido e óleos vegetais e como aditivos de ração animal (BHAT, 2000).

Hemicelulasas

As xilanas representam o tipo mais abundante de hemicelulose e, portanto, a sua conversão em açúcares, principalmente a xilose e arabinose, para a subsequente produção de etanol ou outros bioprodutos, é essencial para se obter elevadas eficiências no processo de conversão de biomassa em energia renovável (DODD; CANN, 2009).

A diversidade e complexidade da estrutura da hemicelulose requerem uma diversidade equivalente de enzimas para a sua degradação, incluindo endo-1,4- β -xilanasas, β -D-xilosidases, α -arabinofuranosidases, α -glucuronidases, acetil-xilana-esterase e feruloil-esterases (DODD; CANN, 2009). Uma variedade dessas enzimas age exclusivamente sobre as cadeias laterais. Com a liberação das cadeias laterais, a cadeia principal de xilana é exposta à clivagem pelas xilanasas. As β -xilosidases clivam xilobiose em dois monômeros de xilose, sendo que esta enzima também pode liberar xilose a partir do final da cadeia principal de xilana ou de um oligossacarídeo.

A cadeia principal de xilana é hidrolisada principalmente pelas endoxilanasas pertencentes as famílias GH10 e GH11, enquanto as cadeias laterais de arabinose são removidas por arabinofuranosidases das famílias GH43, GH51, GH54, GH62 (GILBERT, 2010). Os ácidos urônicos das cadeias laterais são liberados a partir do terminal não redutor do xilooligossacarídeos por glucuronidases da família GH67 (NURIZZO et al., 2002), embora dados recentes mostraram que glucuronidases da família GH115 são capazes de remover o ácido urônico a partir das regiões internas do polímero de xilana (RYABOVA et al., 2009). A Figura 6 ilustra o polímero da xilana e as enzimas que atuam para sua degradação.

O interesse industrial pelas hemicelulasas vem crescendo nas últimas décadas, principalmente nas indústrias de papel e celulose, alimentos e têxtil. Além disso, a presença de xilanasas no complexo enzimático é de grande importância para desestruturar o entrelaçamento entre hemicelulose e celulose presente na parede celular vegetal. Esse grupo de polissacarídeos ramificados se liga firmemente entre si e à superfície das microfibrilas de celulose, dificultando a ação das celulasas durante o processo de sacarificação. Portanto, as hemicelulasas possuem um papel fundamental também para aumentar a eficiência das celulasas na hidrólise enzimática da biomassa vegetal.

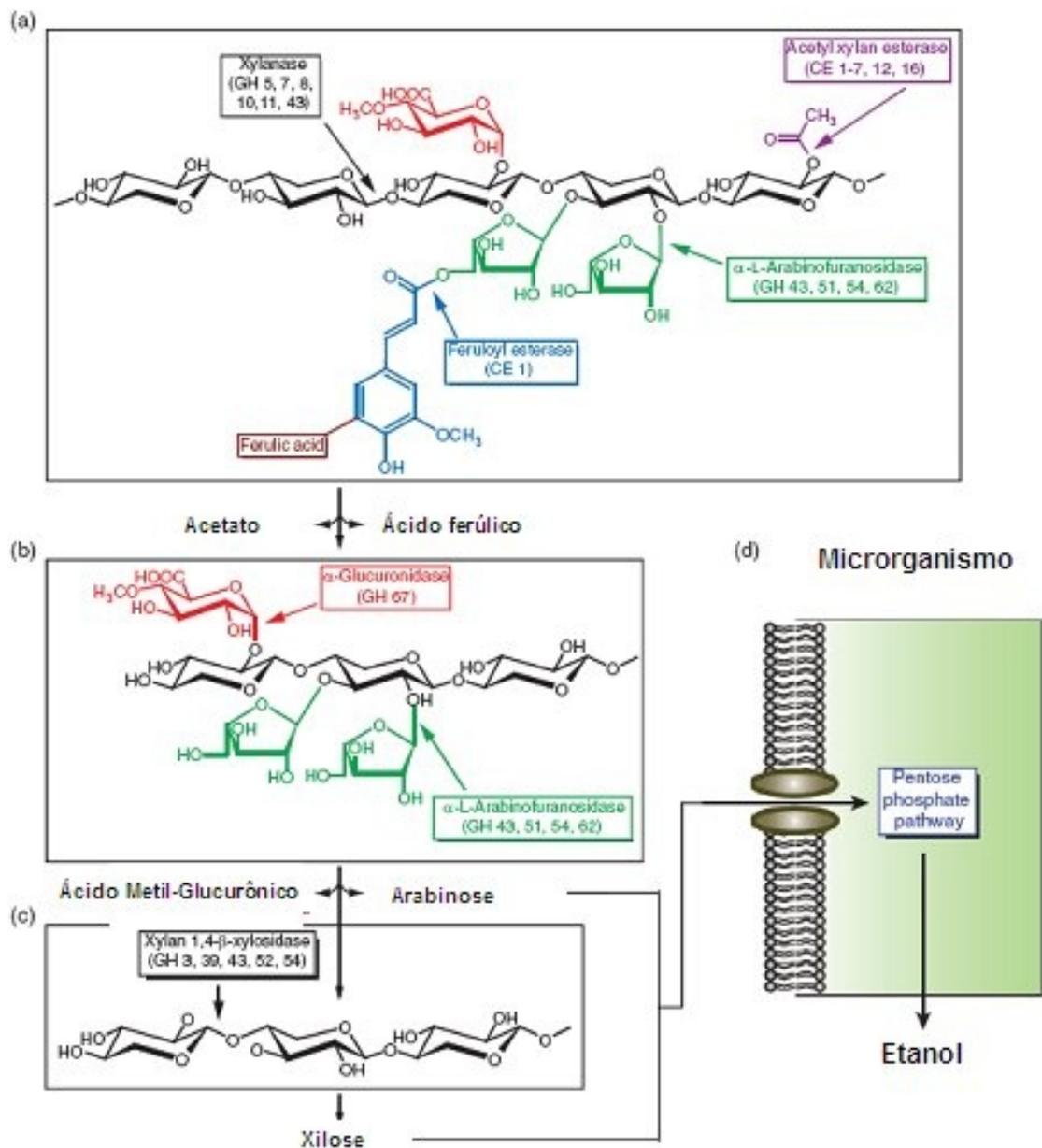


Fig. 6. Fluxograma esquemático representando a coordenação das enzimas xilanólicas na desconstrução da hemicelulose visando à produção de biocombustíveis. (a) Xilanases, acetil-xilana-esterases e feruloil-esterases atuam em conjunto para produzir xilo-oligossacarídeos substituídos com a concomitante liberação de ácido ferúlico e ácido acético. (b) Arabinofuranosidas e glucuronidas, em seguida, liberam arabinose e ácido glucurônico destes xilo-oligossacarídeos. (c) As xilosidas convertem o xilo-oligossacarídeos em seus açúcares constituintes, xilose. (d) Microrganismos fermentativos selecionados podem finalmente utilizar os açúcares xilose e arabinose para produção de etanol (Adaptado de DODD; CANN, 2009).

Conclusões

Avanços em relação ao entendimento da interação entre a parede celular vegetal e as enzimas que atuam na sua degradação são de fundamental importância na viabilização do uso da biomassa vegetal como fonte de energia renovável. A fim de produzir coquetéis enzimáticos otimizados para hidrólise da biomassa visando à produção de biocombustíveis será essencial ter um conhecimento detalhado da estrutura da parede celular da matéria-prima específica do processo em questão, uma vez que as enzimas são insumos que impactam significativamente o custo total do processo. Além disso, a conversão da hemicelulose em açúcares fermentescíveis é essencial para se aumentar a eficiência e viabilizar economicamente o processo de conversão da biomassa.

Referências

- BHAT, M.K. Cellulase and related enzymes in biotechnology. **Biotechnology Advances**, New York, v. 18, p. 355-383, 2000.
- BUCKERIDGE, M. S.; SANTOS, W. D. dos; SOUZA, A. P. As rotas para o etanol celulósico no Brasil. In: CORTEZ, L. A. B. (Coord.). **Bioetanol de cana-de-açúcar: P&D para produtividade e sustentabilidade**. São Paulo: Editora Blucher, 2010. p. 365-380.
- CANTAREL, B. L.; COUTINHO, P. M.; RANCUREL, C.; BERNARD, T.; LOMBARD, V.; HENRISSAT, B. The Carbohydrate-Active EnZymes database (CAZy): an expert resource for glycogenomics. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v. 37, p. D233–D238, 2009.
- CASTRO, A. M.; PEREIRA Jr., N. Produção, propriedades e aplicação de celulases na hidrólise de resíduos agroindustriais. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n. 1, p. 181-188, 2010.
- CASTRO, M. A. **Produção e Propriedades de Celulases de Fungos Filamentosos, Obtidas a Partir de Celulignina de Bagaço de Cana-de-Açúcar**. 212 f. 2006. Dissertação (Mestrado) - Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ, 2006.
- DILLON, A. J. P.; ZORGI, C.; CAMASSOLA, M.; HENRIQUES, J. A. P. Use of 2-deoxyglucose in liquid media for the selection of mutant strains of *Penicillium echinulatum* producing increased cellulase and β -glucosidase activities. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 70, p. 740–746, 2006.
- DODD, D.; CANN, I. K. O. Enzymatic deconstruction of xylan for biofuel production. **GCB Bioenergy**, [S. l.], v. 1, p. 2–17, 2009.
- FARINAS, C. S.; LEMO, V.; RODRIGUEZ-ZUNIGA, U. F.; BERTUCCI NETO, V.; COURI, S. **Avaliação de diferentes resíduos agroindustriais como substratos para a produção de celulases por fermentação semi-sólida**. São Carlos, SP: Embrapa Instrumentação Agropecuária, 2008. 15 p. (Embrapa Instrumentação Agropecuária. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 22).
- FARINAS, C. S.; MARTIN-NETO, L.; GIORDANO, R. C. Instrumentação e Automação na Agroindústria da Cadeia Cana-Etanol. In: CORTEZ, L. A. B. (Coord.). **Bioetanol de cana-de-açúcar: P&D para produtividade e sustentabilidade**. São Paulo: Editora Blucher, 2010. p. 601-617.
- FENGEL, D.; WEGENER, G. **Wood Chemistry, Ultrastructure, Reactions**. Berlin: Walter de Gruyter, 1989.
- GILBERT, H. J. The Biochemistry and Structural Biology of Plant Cell Wall Deconstruction. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 153, p. 444-455, 2010.
- KIM, S. W.; KANG, S. W.; LEE, J. S. Cellulase and xylanase production by *Aspergillus niger* KKS in various bioreactors. **Bioresource Technology**, Essex, v. 59, p. 63-67, 1997.
- LARSEN, J.; PETERSEN, M. O.; THIRUP, L.; LI, H. W.; IVERSEN, F. K. The IBUS Process: Lignocellulosic Bioethanol Close to a Commercial Reality. **Chemical Engineering & Technology**, Weinheim, v. 31, n. 5, p. 765–772, 2008.
- LYND, L. R.; WEIMER, P. J.; VAN, Z.Y. L.; PRETORIUS, I. S. Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology. **Microbiology Molecular Biology Reviews**, New York, v. 66, p. 506-577, 2002.
- NURIZZO, D.; NAGY, T.; GILBERT, H. J.; DAVIES, G. J. The structural basis for catalysis and specificity of the *Pseudomonas cellulosa* alpha-glucuronidase, GlcA67A. **Structure**, Philadelphia, v. 10, p. 547–556, 2002.
- PAULY, M.; KEEGSTRA, K. Plant cell wall polymers as precursors for biofuels. **Current Opinion in Plant Biology**, [S. l.], v. 13, p. 305–312, 2010.
- RYABOVA, O.; VRSANSKA, M.; KANEKO, S.; VAN ZYL, W. H.; BIELY, P. A novel family of hemicellulolytic alpha-glucuronidase. **FEBS Letters**, Amsterdam, v. 583, p. 1457–1462, 2009.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology**. 3rd ed. Sunderland: Sinauer Associates, 2002.
- ZHANG, Y. H. P.; HIMMEL, M. E.; MIELENZ, J. R. Outlook for cellulase improvement: Screening and selection strategies. **Biotechnology Advances**, New York, v. 24, p. 452-481, 2006.
- ZHANG, Y. H. P.; LYND, L. R. Toward an aggregated understanding of enzymatic hydrolysis of cellulose: noncomplexed cellulose systems. **Biotechnology & Bioengineering**, New York, v. 88, p. 797-824, 2004.



Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Instrumentação
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
Rua XV de Novembro, 1452 - Caixa Postal 741 - CEP 13560-970 - São Carlos - SP
Telefone: (16) 2107 2800 - Fax: (16) 2107 2902
www.cnpdia.embrapa.br - sac@cnpdia.embrapa.br

Ministério da
**Agricultura, Pecuária
e Abastecimento**

G O V E R N O F E D E R A L
BRASIL
PAÍS RICO É PAÍS SEM POBREZA