

## **AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE ETANOL POR *Pleurotus sajor-caju***

K. R. PACHECO, M. L. L. da SILVEIRA, E. WISBECK, M. B. CHAVES, J. R. RAMPINELLI, O. SOUZA, S. A. FURLAN e R. M. M. GERN

Universidade DA Região de Joinville, Departamento de Engenharia Química  
E-mail para contato: rgern@univille.br

**RESUMO** – Esforços significativos têm sido feitos para produzir etanol a partir de biomassa lignocelulósica. Os fungos do gênero *Pleurotus* são reconhecidos por produzirem enzimas lignocelulolíticas que os habilitam a degradar a lignina e a celulose dos resíduos agroindustriais. Este trabalho avaliou o consumo de diferentes açúcares (glicose, xilose e sacarose) e do pseudocaule de bananeira, bem como a produção de etanol por *Pleurotus sajor-caju*. Os fatores de conversão de substrato total em etanol foram de 0,02; 0,1 e 0,04 g.g<sup>-1</sup> para os processos em anaerobiose, aerobiose e global, respectivamente. Quando o pseudocaule de bananeira foi utilizado como fonte de carbono, 9,77 g.L<sup>-1</sup> de açúcares totais foram consumido e 0,87 g.L<sup>-1</sup> de etanol produzidos, resultando em um fator de conversão de substrato em produto de 0,09 g.g<sup>-1</sup>. Os resultados indicam que, embora haja a produção de etanol por *P. sajor-caju*, novos experimentos devem ser realizados de forma a investigar o favorecimento de rotas metabólicas e a condução do processo que visem otimizar a produção deste composto.

### **1. INTRODUÇÃO**

Esforços significativos têm sido realizados para produzir etanol a partir de biomassa lignocelulósica como os resíduos agroindustriais (Bothast e Saha, 1997). De acordo com Chandel *et al.* (2007) o etanol produzido a partir de biomassa fornece benefícios ambientais, econômicos e estratégicos únicos e pode ser considerado como uma alternativa de combustível seguro e limpo em relação aos combustíveis fósseis. Há uma abundância de biomassa lignocelulósica em todo o mundo que pode ser explorada para a produção de bioetanol. No entanto, embora avanços significativos tenham sido feitos em escala de bancada para a geração de bioetanol a partir de lignocelulose, ainda existem obstáculos técnicos e econômicos apresentados à produção de bioetanol em escala comercial. Joshi *et al.* (2011) afirmam que a diminuição nos custos de produção poderá ser obtida por meio do melhoramento do processo de pré-tratamento do material lignocelulósico, da eficácia da hidrólise enzimática por meio da busca de enzimas mais eficientes, do desenvolvimento de processos fermentativos mais eficientes, como o chamado CBP (Bioprocesso Consolidado) no qual a produção de celulase, a hidrólise do substrato e a fermentação são acoplados em uma única etapa e em um único reator (Mizuno *et al.*, 2009a), e do desenvolvimento de tecnologias de recuperação do etanol e remoção dos subprodutos tóxicos.

Micro-organismos que degradam rapidamente restos orgânicos, como fungos, são grandes candidatos a serem usados, em escala comercial, como produtores de enzimas que degradam material lignocelulósico (Simões, 2013). Embora o uso de fungos da classe dos basidiomicetos para a produção de bioetanol não seja explorado, recentemente, trabalhos vêm reportando a habilidade desses fungos no pré-tratamento de material lignocelulósico para posterior processo de fermentação para produção de etanol (Wan e Li, 2012; Wan e Li, 2010); na produção direta de etanol a partir de açúcares simples (monossacarídeos), oligossacarídeos e de biomassa lignocelulósica (Mizuno *et al.*, 2009 a, b; Okamoto *et al.*, 2011; Kamei *et al.*, 2012); ou na sacarificação e fermentação simultâneas (SSF) (Itoh *et al.*, 2003). Os fungos do gênero *Pleurotus* são basidiomicetos reconhecidos por produzirem enzimas lignocelulolíticas que os habilitam a degradar facilmente a lignina e celulose da madeira, assim como outros substratos vegetais e resíduos agroindustriais utilizados para o seu cultivo (Bononi *et al.*, 1991; Capelari, 1996; Bonatti *et al.*, 2004).

Segundo dados da EPAGRI/CEPA (2008), Santa Catarina é o terceiro maior produtor nacional de banana, com uma área plantada de 31.321 hectares e uma produção de 707.683 ton. De acordo com dados EMBRAPA (2008), para cada tonelada de banana industrializada, aproximadamente 3 toneladas de pseudocaule são gerados (Souza *et al.*, 2010). Gonçalves Filho (2011) caracterizou o pseudocaule da bananeira *Musa cavendishii*, cultivada comercialmente no Estado de Santa Catarina encontrando, em base seca,  $8,1 \pm 2,1\%$  de lignina,  $44,0 \pm 2,0\%$  de celulose e  $16,5 \pm 3,5\%$  de hemicelulose. De acordo com estes dados, o autor concluiu que o pseudocaule apresenta potencial para ser utilizado como substrato da fermentação alcoólica.

Sendo assim, este trabalho avaliou o consumo de diferentes açúcares e do pseudocaule de bananeira, bem como, a produção de etanol por *Pleurotus sajor-caju*.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

O inóculo foi preparado em um meio de cultivo contendo 5 g de extrato de levedura e 40 g de glicose, dissolvidos em 1L de extrato de trigo (Gern *et al.*, 2008). Dois frascos de Erlenmeyer de 125 mL contendo 40 mL do meio de cultivo foram inoculados com o micélio de *Pleurotus sajor-caju* contido em uma placa de Petri, obtido do Centro de Cultivo de Basidiomicetos da USP sob o código CCB 019. Os frascos foram incubados a  $30^{\circ}\text{C}$  e  $120 \text{ min}^{-1}$ , por 7 dias.

Os experimentos foram conduzidos em garrafa de Duran de 2 L contendo 400 mL do meio de cultivo descrito acima, acrescido da fonte de carbono a ser avaliada (xilose, glicose, sacarose ou pseudocaule de bananeira) na concentração de  $20 \text{ g.L}^{-1}$ . O pseudocaule foi prensado em prensa hidráulica para retirar a fração líquida, seco em estufa de ventilação forçada a  $60^{\circ}\text{C}$  por 20 horas, triturado em triturador forrageiro ajustado para obtenção de partículas com tamanho máximo de 5 mm e moído a pó em grau e pistilo (Maia, 2013). O meio foi esterilizado ( $1,5 \text{ atm}$ ,  $120^{\circ}\text{C}$ , 15 min) e inoculado com 40 mL do inóculo. O oxigênio presente no meio foi arrastado por meio de um fluxo de  $\text{N}_2$  e o fungo foi incubado a  $120 \text{ min}^{-1}$ , a  $30^{\circ}\text{C}$ , por 14 dias, em anaerobiose. Amostras de 5 mL foram retiradas em 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 e 14 dias de cultivo. Após a retirada da amostra do 14º dia de cultivo, permitiu-se a passagem do oxigênio através de um filtro de membrana com  $0,22 \mu\text{m}$  de diâmetro de poro. Uma nova amostra foi retirada no 21º dia de cultivo. As amostras foram centrifugadas a 5220 g,

por 10 min. O sobrenadante foi congelado para posterior análise do consumo de substrato e produção de etanol.

A concentração de etanol foi determinada por cromatografia gasosa utilizando a coluna HP-1 com fase estacionária 100% de dimetil polisiloxano. O gás de arraste utilizado foi hélio, com fluxo de  $2,2 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ . As temperaturas de injeção e detecção foram de 280 e 290°C, respectivamente, com temperatura do forno inicialmente a 60°C permanecendo por 2 min após os quais a temperatura foi aumentada em uma velocidade de  $10^\circ\text{C}/\text{min}^{-1}$ , até 100°C, aumentando para  $20^\circ\text{C}/\text{min}$  até atingir 150°C, e  $30^\circ\text{C}/\text{min}$  até 300°C, permanecendo por 2 min. O volume de amostra injetada foi de 1  $\mu\text{L}$ .

Os carboidratos glicose, sacarose e xilose foram determinados por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC, Merck Hitachi modelo D-7000) empregando o detector de índice de refração Merk RI-71 e coluna Ca Supelco 30 cm e água ultra pura como eluente, com vazão de  $0,4 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ , a 65°C.

Os açúcares totais foram determinados pelo método do fenol-sulfúrico (Dubois *et al.*, 1956). Sobre 0,5 mL de amostra foram adicionados 0,5 mL de fenol a 4% e 2,5 mL de ácido sulfúrico concentrado. A presença de açúcares é visualizada pelo aparecimento de coloração alaranjada, sendo a intensidade de cor relacionada à concentração de açúcares, medida em espectrofotômetro a 490nm.

O fator de conversão de substrato em etanol para o experimento que avaliou a cinética de consumo de substrato e produção de etanol nos meios contendo as diferentes fontes de carbono foi definido em três momentos do processo: a) considerando somente o processo em anaerobiose, no qual o tempo total de cultivo foi de 14 dias; b) considerando somente o processo em aerobiose, iniciado no 14º dia de cultivo e finalizado no 21º dia; c) considerando o processo global (anaerobiose + aerobiose) no qual o tempo total de cultivo foi de 21 dias.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 apresenta a cinética de produção de etanol e consumo de substrato nos meios contendo diferentes fontes de carbono.

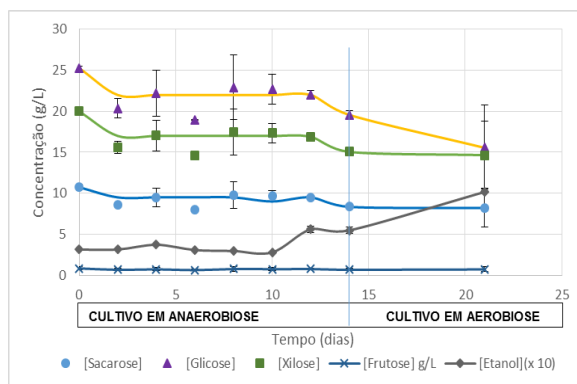


Figura 1 - Cinética de produção de etanol e consumo dos substratos sacarose, glicose, xilose e frutose por *P. sajor-caju*. Os resultados representam a média de duplicatas  $\pm$  erro padrão.

Para o cálculo das concentrações de açúcares apresentadas na Figura 1 foram consideradas as áreas percentuais dos picos obtidos no cromatograma para os açúcares sacarose, glicose e xilose em relação à área total dos picos. No entanto, o cromatograma também apresentou um pico relativo à frutose, mesmo sem esse açúcar ter sido adicionado ao meio. Isso pode ser explicado se considerarmos que parte das moléculas de sacarose podem ter sido hidrolisadas pela alta temperatura (121°C) e pressão (1 atm) no momento da esterilização do meio de cultivo (Nolasco e Massaguer, 2006). Este fato também explicaria a presença de 25 g.L<sup>-1</sup> (Figura 1) de glicose ao invés dos 20 g.L<sup>-1</sup> adicionados ao meio no tempo inicial de cultivo. Observando ainda a Figura 1 percebe-se o consumo de 5 g.L<sup>-1</sup> de glicose e 4,5 g.L<sup>-1</sup> de xilose até o 2<sup>o</sup> dia de cultivo. Este valor se mantém constante até o 14<sup>o</sup> dia, quando inicia-se o processo em aerobiose. A partir de então, observa-se novamente o consumo de glicose da ordem de 4 g.L<sup>-1</sup>. Os demais açúcares não foram significativamente consumidos.

Quanto ao etanol, detectou-se a concentração de 0,31 g.L<sup>-1</sup> no início do cultivo, provavelmente proveniente do inóculo. Essa concentração se manteve constante até o 12<sup>o</sup> dia de cultivo, quando aumentou para 0,56 g.L<sup>-1</sup> e é mantida até o 14<sup>o</sup> dia, início do período em aerobiose. Do 14<sup>o</sup> ao 21<sup>o</sup> dia (período em que o processo foi conduzido em aerobiose), a concentração de etanol tem um aumento de aproximadamente 85%, chegando a 1,02 g.L<sup>-1</sup>.

A Tabela 1 apresenta a concentração de açúcar consumido e os fatores de conversão de substrato em etanol, em diferentes fases do processo. Observando os resultados, percebe-se um baixo percentual de consumo de açúcar tanto em anaerobiose como em aerobiose. Vários autores estudaram o consumo de açúcares por fungos do gênero *Pleurotus* em aerobiose. Wisbeck *et al.* (2005) avaliaram o efeito da concentração de glicose na produção de exopolissacarídeos por *P. ostreatus* e obtiveram 100% de consumo quando 40 g.L<sup>-1</sup> foram utilizados. Gern *et al.* (2008) avaliando fontes de nitrogênio e a concentração de glicose para o cultivo de *P. ostreatus*, no mesmo meio de cultivo base utilizado nesse trabalho, observaram que, partindo de 20 g.L<sup>-1</sup> desse substrato, 100% de consumo era obtido. O mesmo foi observado por Bonatti (2011) utilizando *P. sajor-caju*. Nesse trabalho, considerando o processo global, o consumo de glicose obtido foi de 9,74 g.L<sup>-1</sup> (38,5%). Observa-se, ainda, que a glicose é consumida em ambas as fases do processo (anaerobiose e aerobiose) enquanto que a xilose é consumida apenas em anaerobiose. Este baixo consumo pode ser explicado pela ausência de oxigênio no meio de cultivo mantida durante 14 dias no processo. No entanto, a anaerobiose foi adotada como forma de condução do processo por ser essa a condição que leva a produção de etanol. Observou-se nesse trabalho que, embora com o metabolismo praticamente estacionado, *P. sajor-caju* foi capaz de recuperar o consumo de açúcar após retorno do processo em condições de aerobiose. Embora os fatores de conversão de substrato em produto tenham sido avaliados individualmente (Tabela 1), consideraremos, para fins de discussão, apenas o fator de conversão obtido da somatória de todos os açúcares (TOT) (0,02, 0,1 e 0,04 g.g<sup>-1</sup> para os processos conduzidos em anaerobiose, aerobiose e global, respectivamente). Neste caso, observa-se que o maior fator de conversão é obtido no processo em aerobiose, sendo a glicose o principal açúcar utilizado para a conversão nessa fase.

Tabela 1 - Concentração de substrato consumido e fatores de conversão de substrato em produto para experimento que avaliou a cinética de consumo de substrato e produção de etanol por *P. sajor-*

*caju* nos meios contendo as diferentes fontes de carbono em três momentos do processo: processo em anaerobiose, processo em aerobiose e processo global considerando cada açúcar individualmente (sacarose - SAC, glicose - GLI, xilose - XIL e frutose - FRU) e a soma total de todos os açúcares (TOT)

		ANAEROBIOSE	AEROBIOSE	PROCESSO GLOBAL
[S] (g.L <sup>-1</sup> )	SAC	2,4	0,14	2,54
	GLI	5,73	4,02	9,74
	XIL	4,95	0,4	5,35
	FRU	0,17	0	0,13
	TOT	13,3	4,56	17,76
Y <sub>P/S</sub> (g.g <sup>-1</sup> )	SAC	0,1	3,35	0,28
	GLI	0,04	0,12	0,07
	XIL	0,05	1,17	0,13
	FRU	1,46	0	5,41
	TOT	0,02	0,1	0,04

Ainda quanto ao consumo dos diferentes açúcares avaliados, observa-se na Tabela 1 que a glicose é preferencialmente consumida pelo fungo, seguida do consumo de xilose. Papaspyridi et al. (2010) avaliaram oito diferentes carboidratos (frutose, glicose, xilose, manose, maltose, sacarose, trealose e rafinose) para selecionar a melhor fonte de carbono para o crescimento micelial de *Pleurotus ostreatus*. As máximas concentrações de biomassa micelial de 23,7±0,5, 21,1±0,5 e 20,5±0,8 g.L<sup>-1</sup> foram obtidas quando xilose, glicose e trealose foram utilizadas, respectivamente. Os autores também afirmam que, com xilose como fonte de carbono, o metabolismo se dá pela Via das Pentoses-Fosfato que é encontrada em quase todos os organismos fornecendo D-ribose para biossíntese de ácidos nucleicos, D-4-eritrose fosfato para a síntese dos aminoácidos aromáticos e de NADPH para reações anabólicas.

A Figura 2 apresenta o consumo de açúcares totais e a produção de etanol em aerobiose por *P. sajor-caju* em meio de cultivo contendo pseudocaule de bananeira como fonte de carbono.

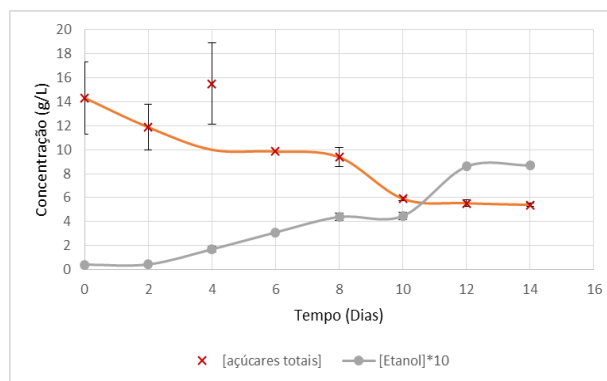


Figura 2 - Cinética de produção de etanol e consumo de açúcares totais por *P. sajor-caju* em meio contendo pseudocaule de bananeira como fonte de carbono. Os resultados representam a média de duplicatas  $\pm$  erro padrão.

Como pode ser observado na Figura 2, a adição de 20 g.L<sup>-1</sup> de pseudocaule desidratado em pó ao meio de cultivo resultou em uma concentração inicial de 14,33 g.L<sup>-1</sup> de açúcares totais. Considerando os resultados obtidos por Gonçalves Filho (2011) para o pseudocaule da bananeira *Musa cavendishii*, que reporta a obtenção estequiométrica teórica de 488,4 kg de glicose por ton de pseudocaule em base seca (48,84%), 9,77 g.L<sup>-1</sup> da concentração total de açúcares seriam provenientes da hidrólise da celulose presente no pseudocaule. O restante de açúcares presentes no meio pode ser proveniente do extrato de levedura (3,35 g.L<sup>-1</sup>) (Santucci *et al.*, 2003 e também do próprio extrato de trigo ou ainda da liberação de outros açúcares (pentoses) que não a glicose quando da hidrólise do pseudocaule pelo ácido sulfúrico concentrado.

Nesse trabalho, a produção de etanol foi de 0,87 g.L<sup>-1</sup> a partir de 8,93 g de açúcares totais, levando a um fator de conversão extremamente baixo (0,09 g de etanol/g de substrato) quando comparado aos fatores de conversão reportados na literatura (aproximadamente 0,3 g.g<sup>-1</sup>). Observa-se que, no processo conduzido em aerobiose, houve um consumo significativo dos açúcares presentes no meio (8,93 g.L<sup>-1</sup>), mas parte do substrato deve ter sido utilizado para produção de biomassa micelial (dados não disponíveis) em detrimento da produção de etanol. No entanto, mesmo em baixa concentração, o etanol é produzido, indicando a expressão da álcool desidrogenase pelo fungo.

#### 4. CONCLUSÃO

A máxima produção de etanol foi de 1,02 g.L<sup>-1</sup> no meio de cultivo contendo glicose, xilose, frutose e sacarose como fonte de carbono. Desta concentração, 0,46 g.L<sup>-1</sup> (45,1%) foram produzidos no período em que o processo foi conduzido em anaerobiose. Quanto ao consumo de açúcar, glicose, seguida de xilose, parecem ser consumidos preferencialmente pelo fungo, em detrimento de sacarose e frutose. Quando o pseudocaule de bananeira foi utilizado, 8,93 g.L<sup>-1</sup> de açúcares totais foram consumidos e 0,87 g.L<sup>-1</sup> de etanol foram produzidos, levando a um fator de conversão de 0,09 g de etanol/g de substrato, muito aquém do rendimento teórico calculado. Considerando a faixa de abrangência das pesquisas realizadas pelos autores, é possível afirmar que esse é o primeiro trabalho que reporta a produção de etanol por fungos do gênero *Pleurotus*. Os resultados indicam que, embora haja a possibilidade de produção de etanol utilizando *P. sajor-caju*, novos experimentos devem ser realizados de forma a investigar o favorecimento de rotas metabólicas e a condução do processo que visem otimizar a produção de etanol.

#### 5. REFERÊNCIAS

BONATTI, M.; KARNOPP, P.; SOARES, H. M.; FURLAN, S. A. Evolution of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju* nutritional characteristics when cultivated different lignocellulosic wastes. *Food Chemistry*, v. 88, p. 425-428, 2004.



- BONATTI, M. *Estudo de diferentes formas de condução do processo de produção de polissacarídeos extracelulares por Pleurotus spp.* 130f. Tese (Doutorado em Engenharia Química). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2011.
- BONONI, V.L.R.; MAZIERO, R.; CAPELARI, M. *Pleurotus ostreatoroseus* of edible fungi. In: VAN GRIENSVEN, L.J.L.D. (Ed.). *Science and cultivation of edible fungi*. Rotterdam: Balkema, v.2, p.531-532, 1991.
- BOTHAST, R. J.; SAHA, B. C. Ethanol production from agricultural biomass substrates. *Advances in Applied Microbiology*, v. 44, p. 261-286, 1997.
- CAPELARI, M. *Atividade biodegradadora e cultivo de três espécies comestíveis de basidiomicetos: Pleurotus sp. e Agrocybe perfecta* (Rick) Sing. 1996. 154p. Tese (Doutorado em Botânica) - Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1996.
- CHANDEL, A.; CHAN, E.; RUDRAVARAM, R.; NARASU, L.; RAO, V.; RAVINDRA, P. Economics and environmental impact of bio-ethanol production technologies: An appraisal. *Biotechnology and Molecular Biology Review*, v. 2, n. 1, p. 014-032, 2007.
- DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related compounds. *Analytical Chemistry*, v. 28, n. 3, p. 350 - 356, 1956.
- EPAGRI/CEPA (2008). *Banana: Panorama Nacional e estadual*. Disponível em: <<http://cepa.epagri.sc.gov.br>> Acesso em: 04 out. 2013.
- GERN, R. M. M.; WISBECK, E.; RAMPINELLI, J. R.; NINOW, J. L.; FURLAN, S. A. Alternative medium for production of *Pleurotus ostreatus* biomass and potential antitumor polysaccharides. *Bioresource Technology*, v. 99, n. 1, p. 76-82, 2008.
- GONÇALVES FILHO, L. C. *Utilização do pseudocaule de bananeira como substrato da fermentação alcoólica: avaliação de diferentes processos de despolimerização*. 84f. Dissertação. (Mestrado em Engenharia de Processos). Universidade da Região de Joinville, Joinville, 2011.
- ITOH, H.; WADA, M.; HONDA, Y.; KUWAHARA, M.; WATANABE, T. Bioorganosolve pretreatments for simultaneous saccharification and fermentation of beech wood by ethanolysis and white rot fungi. *Journal of Biotechnology*, v. 103, p. 273-280, 2003.
- JOSHI, B.; BHATT, M. R.; SHARMA, D.; JOSHI, J.; MALLA, R.; SREERAMA, L. Lignocellulosic ethanol production: Current practices and recent developments. *Biotechnology and Molecular Biology Reviews*, v. 6, n. 8, p. 172-182, 2011.
- KAMEI, I.; HIROTA, Y.; MORI, T.; HIRAI, H.; MEGURO, S.; KONDO, R. Direct ethanol production from cellulosic materials by the hypersaline-tolerant White-rot fungus *Phlebia* SP. MG-60. *Bioresource Technology*, v. 112, p. 137-142, 2012.
- MAIA, Bianca Goulart de Oliveira. *Valorização de resíduos da bananicultura e da rizicultura na produção de briquetes*. Dissertação. (Mestrado em Engenharia de Processos). Universidade da Região de Joinville, Joinville, 2013.

MIZUNO, R.; ICHINOSE, H.; HONDA, M.; TAKABATAKE, K.; SOTOME, I.; MAEHARA, T.; TAKAI, T.; GAU, M.; OKADOME, H.; ISOBE, S.; KANEKO, S. Use of whole crop sorghums as a raw material in consolidated bioprocessing bioethanol production using *Flammulina velutipes*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, v. 73, p. 1671- 1673, 2009a.

MIZUNO, R.; ICHINOSE, H.; MAEHARA, T.; TAKABATAKE, K.; KANEKO, S. Properties of ethanol fermentation by *Flammulina velutipes*. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, v.73, pp. 2240-2245, 2009b.

NOLASCO JR., J.; MASSAGUER, P. R. Thermal degradation kinetics of sucrose, glucose and fructose in sugarcane must for bioethanol production. *Journal of Food Process Engineering*, v. 29, n. 5, p. 462-477, 2006.

OKAMOTO, K.; NITTA, Y.; MAEKAWA, N.; YANASE, H. Direct ethanol production from starch, wheat bran and rice straw by the white rot fungus *Trametes hirsute*. *Enzyme and Microbial Technology*, v. 48, p. 273-277, 2011.

PAPASPYRIDIS, L.-M.; KATAPODIS, P.; GONOU-ZAGOU, Z.; KAPSANAKI-GOTSI, E.; CHRISTAKOPOULOS, P. Optimization of biomass production with enhanced glucan and dietary fibres content by *Pleurotus ostreatus* ATHUM 4438 under submerged culture. *Biochemical Engineering Journal*, v. 50, p. 131-138, 2010.

SANTUCCI, M. C. C.; ALVIM, I. D.; FARIA, E. V.; SGARBIERI, V. C. Efeito do enriquecimento de biscoitos tipo água e sal, com extrato de levedura (*Saccharomyces* sp.). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.23, n. 3, p. 441-446, 2003.

SIMÕES, J. Pesquisa da USP Ribeirão Preto seleciona fungo para produção de etanol celulósico. Disponível em: <<http://www.inovacao.unicamp.br/destaques/pesquisa-da-usp-ribeirao-preto-seleciona-fungo-para-producao-de-etanol-celulosico>> Acesso em: 04 out. 2013.

SOUZA, O.; FEDERIZZI, M.; COELHO, B.; WAGNER, T. M.; WISBECK, E. Biodegradação de resíduos lignocelulósicos gerados na bananicultura e sua valorização para a produção de biogás. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, v. 14, n. 4, p. 438-443, 2010.

WAN, C.; LI, Y. Fungal pretreatment of lignocellulosic biomass. *Biotechnology Advances*, v. 30, p. 1447-1457, 2012.

WAN, C.; LI, Y. microbial pretreatment of corn stoves with *Ceriporiopsis subvermispora* for enzymatic hydrolysis and ethanol production. *Bioresource Technology*, v. 101, p. 6398-6403, 2010.

WISBECK, E.; FURLAN, S. A.; NINOW, J. Efeito da concentração inicial de glicose e do pH na produção de exopolissacarídeos de potencial antitumoral por *Pleurotus ostreatus* DSM 1833. *Revista Saúde e Ambiente*, v. 6, n.2, p. 19-22, 2005.