



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
Faculdade de Engenharia de Alimentos

MARCOS FELLIPE DA SILVA

**VALORIZAÇÃO BIOTECNOLÓGICA DO COLMO DO BAMBU: OBTENÇÃO DE
NANOCELULOSE, BIOETANOL E XILO-OLIGOSSACARÍDEOS POR MEIO DA
HIDRÓLISE ENZIMÁTICA**

CAMPINAS-SP

2021

MARCOS FELLIPE DA SILVA

Tese de Dissertação - Mestrado

**VALORIZAÇÃO BIOTECNOLÓGICA DO COLMO DO BAMBU: OBTENÇÃO DE
NANOCELULOSE, BIOETANOL E XILO-OLIGOSSACARÍDEOS POR MEIO DA
HIDRÓLISE ENZIMÁTICA**

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestre em Engenharia de Alimentos.

Orientadora: Profa. Dra. Rosana Goldbeck

Co-Orientadora: Profa. Dra. Maria Teresa Pedrosa Silva Clereci

Este trabalho corresponde à versão final da dissertação defendida pelo aluno Marcos Fellipe da Silva, orientada pela professora Dra. Rosana Goldbeck e co-orientada pela professora Dra. Maria Teresa Pedrosa Silva Clereci.

Campinas - SP

2021

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Engenharia de Alimentos
Claudia Aparecida Romano - CRB 8/5816

Si38v Silva, Marcos Fellipe da, 1996-
Valorização biotecnológica do colmo de bambu: obtenção de nanocelulose, bioetanol e xilo-oligossacarídeos por meio da hidrólise enzimática / Marcos Fellipe da Silva. – Campinas, SP : [s.n.], 2021.

Orientador: Rosana Goldbeck.

Coorientador: Maria Teresa Pedrosa Silva Clereci.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1. Bambu. 2. Extração. 3. Hidrólise enzimática. 4. Nanocelulose. 5. Xilooligossacarídeos. I. Goldbeck, Rosana. II. Clereci, Maria Teresa Pedrosa Silva. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. IV. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Biotechnological valuation of bamboo culm: obtaining nanocellulose, bioethanol and xylooligosaccharides

Palavras-chave em inglês:

Bamboo

Extraction

Enzymatic hydrolysis

Nanocellulose

Xylooligosaccharides

Área de concentração: Engenharia de Alimentos

Titulação: Mestre em Engenharia de Alimentos

Banca examinadora:

Rosana Goldbeck [Orientador]

Ruann Janser Soares de Castro

Maria Tereza Grombone Guaratini

Data de defesa: 25-02-2021

Programa de Pós-Graduação: Engenharia de Alimentos

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)

- ORCID do autor: <https://orcid.org/0000-0002-4938-2447>

- Currículo Lattes do autor: https://www.cnpq.br/cvlattesweb/PKG_MENU.men

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Rosana Goldbeck

FEA/UNICAMP

Orientadora

Prof. Dr. Ruann Janser Soares de Castro

FEA/UNICAMP

Membro Titular

Profa. Dra. Maria Tereza Grombone

USP

Membro Titular

A ata da defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/Tese e na Secretaria do Programa da Unidade.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus pela dádiva da vida, permitindo até neste momento viver debaixo da tua graça. Obrigado por sempre está ao meu lado, me dando forças, conduzindo meus caminhos, cuidando e capacitando a cada momento para enfrentar as diversidades que a vida impõe.

Agradeço à minha querida orientadora Profa. Dra. Rosana Goldbeck por tudo que ela proporcionou durante esse período do Mestrado. Agradeço por todas as orientações, correções, disponibilidade, confiança, credibilidade, amizade e respeito. És um verdadeiro exemplo de profissional a ser seguido! Sou imensamente grato pela sua fundamental contribuição em minha formação. Sou imensamente grato também à minha coorientadora Profa. Dra. Maria Teresa por ter me apresentado e me inserido nessa área de aproveitamento de bambus, sou grato por toda confiança e orientação.

Sou grato a minha família pelo apoio incondicional em todos os momentos. Sobretudo um agradecimento especial a meus pais, Marcos e Cida, por terem sido exemplos para mim em minha criação e pelo amor incondicional que me proporcionam, e ao meu irmão, Ítalo que sempre me apoiou em minha caminhada. Sou grato ao Gustavo por todo apoio, companheirismo, paciência e incentivo principalmente nesta reta final do Mestrado. Gostaria de lembrar do importante papel que minhas queridas avós Maria Elina (*In memoriam*) e Edilueza Maria (*In memoriam*) desempenharam na minha vida, sempre me auxiliando e incentivando para que eu alcançasse meus objetivos.

Gostaria de agradecer aos colegas e amigos do LEMeB que contribuíram direta ou indiretamente em minha formação e/ou desenvolvimento deste trabalho. Um Agradecimento especial ao meu amigo Allan, que é praticamente um irmão mais velho que não tive, sempre me auxiliando e aconselhando bastante, além de proporcionar diversos momentos de descontração; a Paty por toda paciência, troca de informações e tutoriais de como operar o Dionex, ao Lucas por todas as boas conversas e trocas de informações sobre imobilização e a Pri, por todos os treinamentos, trocas de conhecimentos e as boas conversas e desabafos que tínhamos nos intervalos das análises. Um agradecimento especial também à Yuri, por todo apoio na fase inicial e fundamental do projeto, que essa parceria seja duradoura e renda bons frutos.

Não poderia deixar de agradecer também aos meus amigos e colegas que cursaram as disciplinas obrigatórias, que apesar de todas as dificuldades, sempre procuramos ajudar uns aos outros. Um agradecimento especial a Renann, meus burgueses (Larissa e Henrique), Lucimar,

Tereza, Fabi e Ercília por todos os momentos de estudos, apoio, execução de trabalhos, cafés e boas conversas.

À Universidade Estadual de Campinas no âmbito da Faculdade de Engenharia de Alimentos e do Departamento de Engenharia de Alimentos (FEA-DEA) por proporcionar todo o aporte necessário para o desenvolvimento da pesquisa científica.

Agradeço ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), pelo fomento da bolsa de pesquisa durante o Mestrado.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001

Gostaria de agradecer a todos os docentes, profissionais, amigos e colegas que direta ou indiretamente contribuíram para que eu pudesse chegar até aqui. Ninguém consegue chegar a lugar nenhum sozinho!

Obrigado!

RESUMO

No contexto da biorrefinaria, pesquisadores vêm buscando biomassas lignocelulósicas para a produção dos mais diversos compostos que possam ser economicamente viáveis e aplicáveis nos mais diferentes setores industriais. Nesse panorama, o bambu surge como uma matriz vegetal de grande interesse, tendo em vista o alto teor de celulose e hemicelulose em seu colmo, portanto, nesse estudo objetivou-se a produção de nanocelulose, glicose, bioetanol e xilo-oligossacarídeos, mediante o aproveitamento das frações celulósicas e hemicelulósicas de espécies de bambu por meio da hidrólise enzimática. Foi selecionada a espécie *Bambusa vulgaris* variedade *vittata* para o aproveitamento da celulose e a espécie *Dendrocalamus latiflorus* para o aproveitamento da xilana. O rendimento médio de extração de celulose foi de 41,87% com uma eficiência de extração de 86,76%. A caracterização dessa fração por FTIR e TGA permitiu observar que a mesma é praticamente livre de interferentes, além de ser termoestável até 300 °C. Com relação à produção de nanocelulose, obteve-se um rendimento de nanocelulose médio de 11,25% para a farinha integral do *B. vulgaris*, enquanto para a celulose extraída, foi atingido rendimentos de 52,6% e, 48 horas de hidrólise enzimática assistida de ultrassom. Para a farinha, a maior eficiência de hidrólise, 21,10% foi verificada no tempo de 72 horas, nas condições de temperatura 60 °C e pH 4,0, obtendo uma concentração de glicose de 4,22 g/L. Para a celulose extraída os resultados foram bem mais promissores, obtendo uma eficiência de hidrólise de 99% na condição de temperatura de 35,9 °C e pH 5,0 no tempo de 72 h de hidrólise, uma vez que proporcionou uma concentração de glicose de 19,8 g/L. Para produção de bioetanol foi observado uma concentração máxima pelo processo de hidrólise e fermentação separadas de 3,41 g/L enquanto que para o processo simultâneo foi de 2,95 g/L. O melhor ensaio de extração da xilana, ocorreu com uma carga de biomassa de 40 g/L obtendo um rendimento máximo de 23,58% e uma eficiência de extração de 92,7%. A caracterização por FTIR e TGA demonstrou que a xilana extraída pode ser classificada como arabinoxilana e pode conter vestígios de celulose e lignina aderida, além de uma estabilidade térmica até 200 °C. Com relação à produção de XOS, o melhor ensaio foi observado no tempo de 24 horas de hidrólise enzimática, na condição de temperatura de 50 °C e pH 5,0, no qual obteve-se XOS totais de 4,95 g/L. Todos esses resultados enaltecem as possibilidades de utilização do colmo de bambu nos mais diversos bioprocessos.

Palavras-chave: bambu, extração, hidrólise enzimática, nanocelulose, glicose, bioetanol, xilo-oligossacarídeos.

ABSTRACT

In the context of biorefinery, researchers have been looking for lignocellulosic biomass for the production of the most diverse compounds that can be economically viable and applicable in the most diverse industrial sectors. In this panorama, bamboo appears as a vegetal matrix of great interest, considering the high content of cellulose and hemicellulose in its stem, therefore, in this study the objective was to produce nanocellulose, glucose, bioethanol and xylooligosaccharides, through use of cellulosic and hemicellulosic fractions of bamboo species through enzymatic hydrolysis. The species *Bambusa vulgaris* variety *vittata* was selected for the use of cellulose and the species *Dendrocalamus latiflorus* for the use of xylan. The average cellulose extraction yield was 41.87% with an extraction efficiency of 86.76%. The characterization of this fraction by FTIR and TGA allowed to observe that it is practically free of interferences, besides being thermostable up to 300 °C. Regarding the production of nanocellulose, an average nanocellulose yield of 11.25% was obtained for the integral flour of *B. vulgaris*, while for the extracted cellulose, yields of 52.6% were achieved and, 48 hours of enzymatic hydrolysis assisted by ultrasound. For the flour, the greatest hydrolysis efficiency, 21.10% was verified in 72 hours, under the conditions of temperature 60 °C and pH 4.0, obtaining a glucose concentration of 4.22 g / L, while for the extracted cellulose the results were much more promising, obtaining a hydrolysis efficiency of 99% in the temperature condition of 35.9 °C and pH 5.0 in the 72 h hydrolysis time, since it provided a glucose concentration of 19.8 g/L. For bioethanol production a maximum concentration was observed by the SSH process of 3.41 g/L while for the SSF process it was 2.95 g / L. The best xylan extraction test, occurred with a biomass load of 40 g/L, obtaining a maximum yield of 23.58% and an extraction efficiency of 92.7%. The characterization by FTIR and TGA demonstrated that the extracted xylan can be classified as arabinoxylan and can contain traces of cellulose and adhered lignin, in addition to thermal stability up to 200 °C. Regarding the production of XOS, the best test was observed in 24 hours of enzymatic hydrolysis, at a temperature of 50 °C and pH 5.0, to which total XOS of 4.95 g/L was obtained. All these results highlighted the possibilities of using bamboo stalk in the most diverse bioprocesses.

Keywords: bamboo, extraction, enzymatic hydrolysis, nanocellulose, glucose, bioethanol, xylooligosaccharides.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	11
2. OBJETIVOS	14
2.1. Objetivo geral	14
2.2. Objetivo específico	14
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
3.1. Biomassas Lignocelulósicas	15
3.1.1. <i>Celulose</i>	16
3.1.2. <i>Hemicelulose</i>	17
3.1.3. <i>Lignina</i>	18
3.2. Bambu	19
3.3. Hidrólise Enzimática	24
3.4. Nanocelulose	25
3.5. Xilo-Oligossacarídeos	27
3.6. Açúcares Fermentescíveis	29
3.7. Bioetanol	30
4. MATERIAL E MÉTODOS	32
4.1. Biomassas Lignocelulósicas	32
4.2. Caracterização Físico-química das Biomassas Lignocelulósicas	32
4.1. Extração da Celulose	35
4.4. Caracterização da Celulose Extraída do Colmo de Bambu	36
4.4.1. <i>Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)</i>	36
4.4.2. <i>Análise Termogravimétrica (TGA)</i>	36
4.5. Aproveitamento Biotecnológico da Fração Celulósica do Colmo do Bambu	36
4.5.1. <i>Atividade de Celulases Totais</i>	36
4.5.2. <i>Produção de Nanocelulose</i>	37
4.5.3. <i>Produção de Glicose</i>	38
4.5.4. <i>Produção de Bioetanol</i>	39
4.5.4.1. <i>Preparação do Inóculo</i>	39
4.5.4.2. <i>Hidrólise e Fermentação Separadas</i>	39
4.5.4.3. <i>Hidrólise e Fermentação Simultânea</i>	39
4.5.5. <i>Quantificação dos Açúcares e Produtos de Fermentação</i>	40
4.5.6. <i>Determinação dos Parâmetros Cinéticos dos Processos Fermentativos</i>	40

4.6. Extração da Xilana	41
4.7. Caracterização da Xilana Extraída do Colmo de Bambu	41
4.7.1. <i>Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)</i>	41
4.7.2. <i>Análise Termogravimétrica (TGA)</i>	42
4.8. Aproveitamento Biotecnológico da Xilana do Colmo do Bambu	42
4.8.1. <i>Atividade de Endoxilânase</i>	42
4.8.2. <i>Determinação da Concentração Enzimática</i>	42
4.8.3. <i>Curva de Saturação Enzimática</i>	43
4.5.4. <i>Produção de Xilo-oligossacarídeos</i>	43
4.5.5. <i>Quantificação dos Xilo-oligossacarídeos</i>	44
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
5.1. Caracterização Físico-química das Biomassas Lignocelulósicas	45
5.2. Extração da Celulose	48
5.3. Caracterização da Celulose Extraída do Colmo de Bambu	48
5.3.1. <i>Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)</i>	48
5.3.2. <i>Análise Termogravimétrica (TGA)</i>	50
5.4. Aproveitamento Biotecnológico da Fração Celulósica do Colmo do Bambu	51
5.4.1. <i>Produção de Nanocelulose</i>	51
5.4.2. <i>Produção de Glicose</i>	53
5.4.3. <i>Produção de Bioetanol</i>	65
5.5. Extração da Xilana	67
5.6. Caracterização da Xilana Extraída do Colmo de Bambu	69
5.6.1. <i>Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)</i>	69
5.6.2. <i>Análise Termogravimétrica (TGA)</i>	70
5.7. Aproveitamento Biotecnológico da Xilana Extraída do Colmo de Bambu	72
5.7.1. <i>Produção de Xilo-Oligossacarídeos (XOS)</i>	72
6. CONCLUSÃO GERAL	80
7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	81
8. REFERÊNCIAS	82
9. APÊNDICE	91

1. INTRODUÇÃO GERAL

No âmbito da biorrefinaria, um dos principais desafios que os pesquisadores vêm enfrentado nos últimos anos é a avaliação e a aplicação das mais diversas técnicas envolvendo a biotecnologia para aumentar a eficiência dos processos de forma a obter de maneira otimizada e integrada os mais diversificados compostos de alto valor agregado, a partir de biomassas lignocelulósicas. Entre as principais biomoléculas de interesse que podem ser obtidas, têm-se os prebióticos; os açúcares fermentescíveis, utilizados para obtenção de bioetanol, ácidos orgânicos, biogás e outros produtos fermentados; além de outros biocompostos como a nanocelulose. Todos esses produtos são de grande interesse principalmente para as indústrias química, alimentícia e farmacêutica, tendo em vista a gama de possibilidades de aplicações (DA SILVA *et al.*, 2020).

A nanocelulose é um biocomposto que vem se tornando alvo de muitas pesquisas atualmente, tendo em vista a crescente conscientização global sobre o uso de produtos mais ecológicos para a substituição de produtos derivados do petróleo (THOMAS *et al.*, 2020). Este biomaterial surgiu com notáveis propriedades físico-químicas, biocompatibilidade, renovabilidade, sustentabilidade e propriedades de superfície ajustáveis, além de ser mais ecológico. Por ser derivada da celulose, polímero mais abundante da natureza na terra, a nanocelulose, classificada em cristalina, fibrilada ou bacteriana, combina as propriedades da celulose com características interessantes dos nanomateriais, podendo ser aplicada nos mais diversos setores industriais (KAMEL *et al.*, 2020).

Com relação aos prebióticos, os xilo-oligossacarídeos (XOS) têm recebido um interesse particular devido às suas excelentes e diversificadas propriedades biológicas e funcionais (HONG *et al.*, 2019) e também por poder ser obtido a partir de biomassas lignocelulósicas. Eles estimulam o crescimento de culturas probióticas no trato gastrointestinal, apresentam atividade antioxidante, inibem o desenvolvimento de células cancerígenas, além de diversos outros benefícios para o organismo humano. Estas propriedades tonam os XOS, compostos de alto valor agregado, com múltiplas aplicações e de grande interesse principalmente para as indústrias alimentícias e farmacêuticas (FREITAS; CARMONA; MICHEL, 2019; ZHANG, HONGYU; XU; YU, 2017).

A produção em larga escala dos xilo-oligossacarídeos ocorre por meio do processo de hidrólise enzimática de biomassas lignocelulósicas (SAMANTA *et al.*, 2015). Além da obtenção destes prebióticos por meio deste processo, torna-se inerente a produção de açúcares fermentescíveis, como glicose e xilose. Estes açúcares podem ser aplicados para a produção

biotecnológica dos mais diversos compostos, por meio de processos fermentativos, como o bioetanol por exemplo, biocombustível que está sendo alvo de diversas pesquisas nos últimos anos e que ainda compreende um desafio aos pesquisadores, que buscam condições otimizadas e que sejam economicamente viáveis (ZHANG, HONGYU; XU; YU, 2017).

O bioetanol está sendo promovido em todo o mundo, tornando-se um dos mais importantes combustíveis devido aos seus benefícios que incluem a redução das emissões de gases de efeito estufa, substituição de combustíveis fósseis, aumento da segurança energética e promoção da economia rural (GHANI; GHEEWALA, 2021). Sua obtenção ocorre por meio de processos fermentativos, sendo a *Saccharomyces cerevisiae* a levedura mais empregada para a conversão. As fermentações podem ocorrer de forma convencional, em vasos reacionais diferentes, denominado SHF (hidrólise e fermentação separada), como também através de processo simultâneo, denominado SSF (sacarificação e fermentação simultânea) (HASUNUMA; KONDO, 2012).

A hidrólise enzimática dos materiais lignocelulósicos é considerada um dos métodos mais eficientes para a produção de XOS, açúcares fermentescíveis, bioetanol e está sendo bastante estudada para produção de nanocelulose, como tentativa de substituir os métodos tradicionais, nos quais são utilizadas grandes quantidades de ácidos (CUI *et al.*, 2016). Os tipos de enzimas e suas respectivas proporções são bastante importantes para o sucesso do tratamento. Além disso, o processo de hidrólise enzimática é fortemente influenciado pelas características e composição do material lignocelulósico empregado (GOLDBECK *et al.*, 2014).

Diversas matrizes vegetais como o bagaço e a palha da cana de açúcar, palha de arroz e de trigo, sabugo de milho, entre outras, já vêm sendo bastante estudadas e aplicadas como fontes de frações celulósicas e hemicelulósicas para diversos produtos de interesse industrial, incluindo os prebióticos e os açúcares fermentescíveis. Entretanto, muitos pesquisadores continuam buscando novas biomassas lignocelulósicas que apresentem composições ideais e que sejam economicamente viáveis para a aplicação em processos que envolvem a biorrefinaria. Neste panorama, o bambu surge como uma biomassa lignocelulósica de grande potencial para aplicação neste ramo (HE *et al.*, 2014).

Além de ser uma matéria vegetal ainda pouco explorada, o bambu possui um custo de cultivo consideravelmente baixo, pode ser encontrado em quase todo o território nacional e possui elevados teores de fibras, compostas por grandes quantidades de celulose e hemicelulose em seu colmo. Esses teores podem ser até maiores quando comparados a outras biomassas lignocelulósicas como o bagaço e a palha da cana de açúcar, por exemplo, tornando-se ideais

para aplicações biotecnológicas que envolvem a obtenção de prebióticos, açúcares fermentescíveis, bioetanol e nanocelulose, entre outros bioprodutos (DA SILVA, MARCOS F *et al.*, 2020).

Há uma escassez de trabalhos na literatura que abordem a produção de bioprodutos por meio da hidrólise enzimática do bambu, quando comparado com outras matrizes vegetais lignocelulósicas. Dos poucos existentes, normalmente são realizadas etapas de pré-tratamentos, químicos (ácido ou alcalino) ou promovendo a própria autohidrólise do material lignocelulósico. O diferencial deste trabalho baseia-se na extração da xilana presente na fração hemicelulósica e da celulose do colmo do bambu, para a produção de xilo-oligossacarídeos e açúcares fermentescíveis, bioetanol e nanocelulose, por meio da hidrólise enzimática.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Produzir biocompostos de interesse industrial por meio da hidrólise enzimática das frações de xilana e celulose extraídas do colmo de bambu.

2.2. Objetivos Específicos

- Caracterizar físico-quimicamente variedades de bambu;
- Selecionar as variedades de bambu com os maiores teores de celulose e hemicelulose;
- Extrair as frações de xilana e de celulose das biomassas do bambu selecionadas para a produção de xilo-oligossacarídeos, monossacarídeos fermentescíveis, bioetanol e nanocelulose;
- Caracterizar as frações de xilana e de celulose extraídas do colmo do bambu;
- Determinar as melhores condições de hidrólise enzimática das frações de xilana e celulose obtidas a partir da biomassa do bambu para produção de nanocelulose, monossacarídeos fermentescíveis e xilo-oligossacarídeos;
- Avaliar a produção de bioetanol por meio dos processos de Fermentação e Hidrólise Separadas (SSH) e Sacarificação e Fermentação Simultânea (SSF) a partir da fração celulósica extraída da biomassa do bambu, empregando *Saccharomyces cerevisiae*.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Biomassas Lignocelulósicas

As biomassas lignocelulósicas compreendem uma ampla gama de materiais vegetais de composição similar, os quais em sua maioria são provenientes do processamento de matérias-primas, como o bagaço e palha da cana de açúcar, o sabugo e a palha do milho, os farelos e cascas de maneira geral. No entanto, qualquer composto vegetal é fonte de material lignocelulósico, uma vez que este, é derivado da parede celular característica da estrutura vegetal. A composição majoritária da biomassa é formada por arranjos de polissacarídeos complexos em celulose e hemicelulose, estruturados em um fenil propanóide reticulado, denominado de lignina, como ilustrado na Figura 1 (ALTHURI; GUJJALA; BANERJEE, 2017).

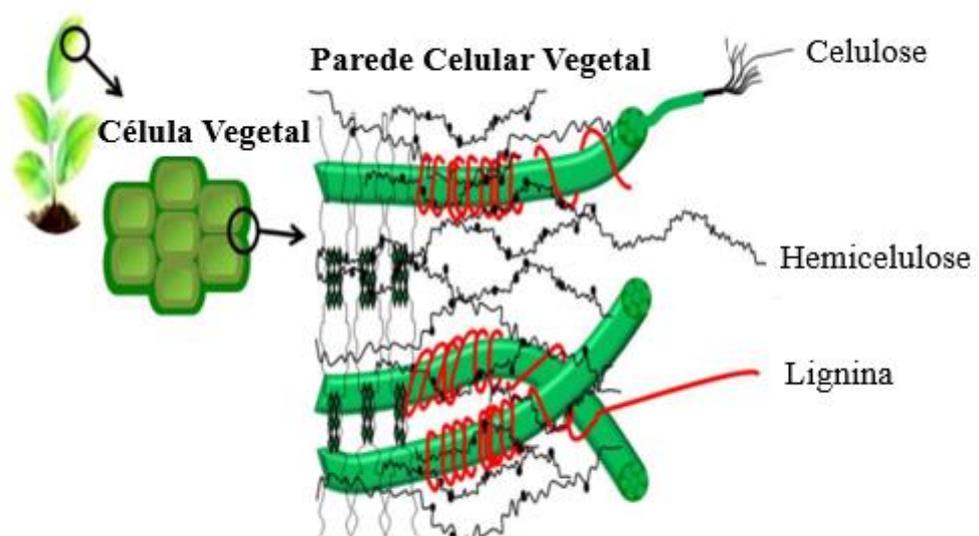


Figura 1. Estrutura das Biomassas Lignocelulósicas (TOMME; WARREN; GILKES, 1995).

Na forma bruta, as biomassas lignocelulósicas não apresentam biodisponibilidade para a obtenção de açúcares fermentescíveis e outras substâncias de interesse, uma vez que a lignina atua como uma espécie de barreira física entre as frações celulósicas e hemicelulósicas e o meio externo, de modo que haja a necessidade de alguns métodos para resolver e contornar este

problema (BANOTH et al., 2017). Diversas técnicas de pré-tratamento e/ou tratamento são descritas na literatura com a finalidade de hidrolisar as cadeias de xilana e celulose das biomassas lignocelulósicas como hidrólise química, que pode ser tanto alcalina como a ácida, o processo hidrotérmico, que consiste na aplicação de altas temperaturas e pressões; e a hidrólise enzimática que se destaca pela sua efetividade, além de ser usada concomitantemente com outras técnicas (HE *et al.*, 2014).

3.1.1. Celulose

A celulose é o polímero estrutural de maior abundância na natureza. Como observado na Figura 2, ela é classificada como um homopolímero apenas composto de unidades de glicose unidas por ligações glicosídicas do tipo β -1,4. O grau de polimerização é de aproximadamente 4000–6000 unidades de glicose em biomassas lenhosas, variando para cada tipo de vegetal assim como para cada estado de seu desenvolvimento (CUI *et al.*, 2016).

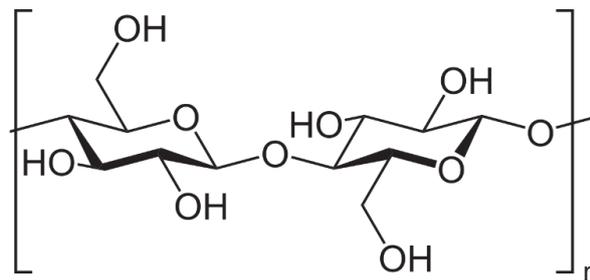


Figura 2. Estrutura Química da Celulose (CUI *et al.*, 2016).

Os polímeros de celulose são interligados através de pontes hidrogênio e ligações do tipo Van der Waals, formando uma estrutura denominada microfibrila e se apresentam na forma cristalina e amorfa, sendo recobertas por hemicelulose e lignina, como ilustrado na Figura 1. A forma cristalina é altamente ordenada e estável, sendo de difícil acesso, quando comparada com a forma amorfa, que é mais fácil para que os tratamentos físicos, físico-químicos e bioquímicos sejam eficientes quanto ao rompimento da estrutura e liberação dos açúcares. Partes de fibra de celulose cristalina unidas umas às outras por ligações de hidrogênio não covalentes, fornecem degradabilidade 3–30 vezes menor em comparação com a parte amorfa. As celulasas por exemplo, são facilmente capazes de hidrolisar a celulose amorfa mais acessível, mas não são tão eficazes na degradação da porção cristalina menos acessível (TAHERZADEH; KARIMI, 2008).

3.2.2. Hemicelulose

A hemicelulose é o segundo maior polissacarídeo da biomassa lignocelulósica. Ela suporta as microfibrilas de celulose por ligações de hidrogênio e se liga à lignina por ligações covalentes. Ao contrário da celulose, a hemicelulose é classificada como um heteropolissacarídeo, como pode ser observado na Figura 3, sendo composta por diferentes carboidratos, apresenta uma estrutura amorfa com grau de polimerização de aproximadamente 200 unidades (HOLTZAPPLE, 2003).

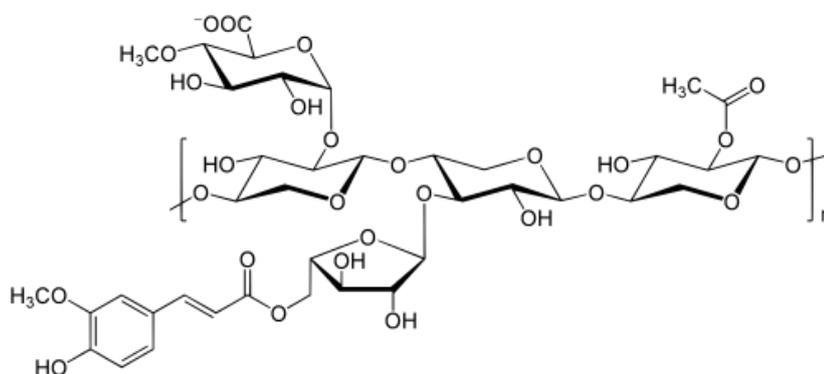


Figura 3. Estrutura Química da Hemicelulose (HOLTZAPPLE, 2003).

Este polissacarídeo é composto de unidades de pentoses (xilose e arabinose), hexoses (glicose, galactose e manose) e ácidos de açúcar como ácido D-glucurônico, ácido 4-Ometil-D-glucurônico e o Ácido D-galacturônico. A composição e estrutura da hemicelulose variam dependendo da espécie do vegetal. Além disso, existem diferenças consideráveis na composição da hemicelulose entre o caule, ramos, raízes e cascas. Existem evidências de que, em média, o número de polissacarídeos diferentes caracterizados na hemicelulose nas espécies vegetais, não exceda a quatro (SAHA, 2003).

A xilana é o principal componente da hemicelulose em gramíneas e madeiras duras, enquanto o glucomanano é o componente de hemicelulose dominante em madeiras macias. As xilanas podem ser classificadas como homo ou heteroxilanas, a depender dos grupos de carboidratos majoritários na estrutura. Elas são normalmente formadas em sua maior parte por unidades de xilose interligadas por meio de ligações glicosídicas do tipo β,1-4 na cadeia principal, podendo conter os demais carboidratos citados anteriormente em cadeias laterais (SILVA, SIMONE S. *et al.*, 1998). Pesquisadores vêm adotando algumas técnicas para isolar esse composto, de modo com que o mesmo possa ser aplicado para produção de prebióticos,

como os xilo-oligossacarídeos, assim como demais bioprodutos obtidos a partir a xilose (YU *et al.*, 2014).

3.2.3. Lignina

A lignina é um polímero polifenólico amorfo significativamente complexo composto por unidades de p-hidroxifenil propanóide o-metoxilado, como observado na Figura 4, sendo variável dependendo da fonte vegetal. Essas unidades monoméricas dão origem às subunidades p-hidroxifenil, guaiacil e siringil, que quando incorporadas umas nas outras formam este polímero fenólico (BHATIA *et al.*, 2020).

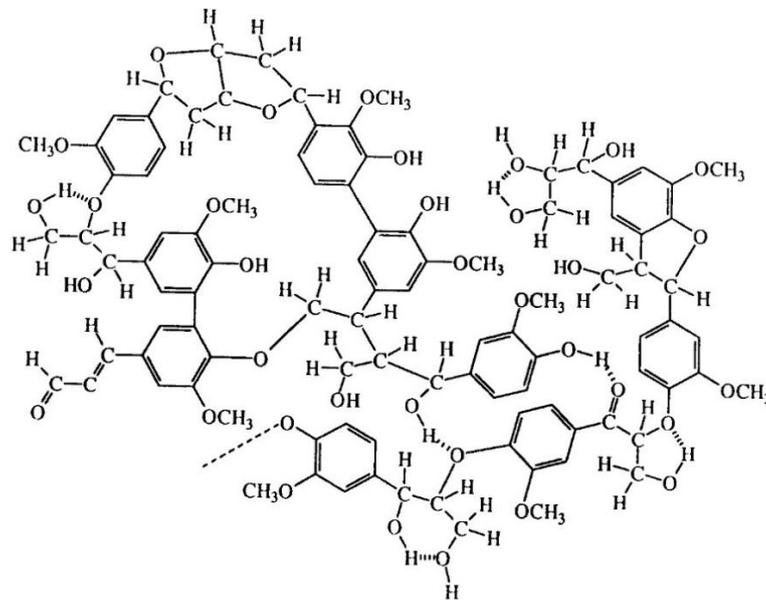


Figura 4. Estrutura Química da Lignina (SALIBA *et al.*, 2001) .

As Gimnospermas (madeira macia) e lignina de samambaia são geralmente compostas de guaiacil, seguido por um pequeno conteúdo de p-hidroxifenil. Em contraste, em plantas Angiospermas (madeira dura), a lignina é composta principalmente por unidades siringil seguidas por unidades guaiacil; nas culturas herbáceas, guaiacil seguido pelas unidades p-hidroxifenil e siringil (BRANDT *et al.*, 2013).

A lignina acaba atuando como um grande conector agregando e envolvendo a celulose e a hemicelulose, proporcionando maior integridade à biomassa. Ela torna a biomassa recalcitrante ao restringir a acessibilidade das enzimas, além de promover resistências mecânicas, microbiológicas, aos demais tratamentos que as biomassas lignocelulósicas são

submetidas, o que evidencia um obstáculo que os pesquisadores vêm contornado de modo a removê-la, ou extrair as demais partes de interesse (celulose e hemicelulose), ou trabalhar com matrizes vegetais de baixo conteúdo de lignina (BICHOT *et al.*, 2018).

3.2. Bambu

O bambu é uma planta rizomatosa, pertence à subfamília *Bambusoideae*, da família das gramíneas (*Poaceae* ou *Gramineae*), dividida em duas ramificações: a *Bambuseae* (denominadas lenhosas ou bambus arbóreos) e a *Olyrae* (denominadas herbáceas). Esta planta cresce cerca de 30% mais rápido do que as demais espécies vegetais e, na relação de peso/hectare/ano, a sua produção é 25 vezes maior do que a da madeira. O colmo é a parte aérea do bambu de maior aproveitamento e aplicações, tendo em vista sua estrutura tenaz e fibrosa, composta principalmente por holocelulose (hemicelulose e celulose), por lignina, além de outros componentes (DRUMOND, PATRÍCIA MARIA; WIEDMAN, 2017).

No âmbito da biotecnologia e dos bioprocessos, o colmo do bambu vem se tornando uma importante matriz vegetal de potencial aplicabilidade nos processos de obtenção de insumos para indústria de alimentos e farmacêutica, como açúcares, substâncias prebióticas, edulcorantes, entre outras, além de ser de bastante interesse para os processos que envolvem a biorrefinaria, principalmente na produção de biocombustíveis e outros compostos químicos. A Figura 3 apresentada a seguir ilustra as principais formas de obtenção de diversos produtos por meio de processos biotecnológicos (HE *et al.*, 2014).

Tabela 1. Comparação de Composição Estrutural entre Matrizes Vegetais Comumente Aplicadas em Bioprocessos com Algumas Espécies de Bambu.

Matriz Vegetal	Celulose (%)	Hemicelulose (%)	Lignina (%)	Referência
Bagaço de Cana	35,3	22,9	14,7	(ANTONIO BIZZO <i>et al.</i> , 2014)
Palha de Cana	36,7	20,5	11,5	(ANTONIO BIZZO <i>et al.</i> , 2014)
Palha de Arroz	30,9	15,7	20,0	(SORN <i>et al.</i> , 2019)
Palha de Milho	32,7	33,3	7,0	(HUANG, CAO XING; WANG; <i>et al.</i> , 2019)
Eucalipto	48,0	13,0	27,0	(HE <i>et al.</i> , 2014)
Casca de Café	48,3	28,7	22,7	(SANTOS <i>et al.</i> , 2018)
Bambu (<i>Bambusa vulgaris</i>)	45,0	21,0	27,0	(DRUMOND, PATRÍCIA MARIA; WIEDMAN, 2017)
Bambu (<i>Dendrocalamus giganteus</i>)	47,5	15,4	26,3	(HERNANDEZ-MENA; PECORA; BERALDO, 2014)
Bambu (<i>Guadua amplexilofia</i>)	48,0	37,0	5,0	(GONZÁLEZ; HERNÁNDEZ-QUIROZ; GARCÍA-GONZÁLEZ, 2014)
Bambu Mossô (<i>Phyllostachys heterocykla</i>)	47,0	23,0	23,0	(BRITO <i>et al.</i> , 2015)

Quando comparados com outras biomassas, são poucos os trabalhos observados na literatura que utilizam o bambu como fonte de material lignocelulósico para os bioprocessos que objetivam obter produtos e/ou ingredientes de interesse industrial, principalmente compostos prebióticos, como os xilo-oligossacarídeos, além de açúcares fermentescíveis, nanocelulose e bioetanol. Das pesquisas existentes, normalmente são utilizados métodos de pré-tratamentos químicos ou autohidrólise combinado ou não com a hidrólise enzimática (HE *et al.*, 2014). A Tabela 2 apresenta os principais trabalhos que utilizam algumas espécies de bambu

para produção de biocompostos, com as respectivas técnicas utilizadas, além dos rendimentos dos produtos obtidos.

Tabela 2. Métodos de Pré-Tratamentos e/ou Tratamentos do Bambu para a Obtenção Biotecnológica de XOS, Açúcares Fermentescíveis e Etanol.

Espécie de Bambu	Pré-Tratamento	Tratamento	Produtos	Rendimento	Referência
<i>Dendrocalamus brandisii</i>	Não Realizado	Hidrólise Ácida (4 g de amostra em 60 mL de H ₂ SO ₄ concentrado a 180°C por 12 h)	Xilo-Oligossacarídeos	54,7%	(BAI; XIAO; SUN, 2015)
Não Mencionado	Auto-Hidrólise (Meio aquoso, a 180 °C por 60 min)	Hidrólise Enzimática (150 rpm, 50 °C por 12 h)	Xilo-Oligossacarídeos	93,2%	(HUANG, CAO XING; LIN; <i>et al.</i> , 2019)
Não Mencionado	Ácido (0,6% H ₂ SO ₄ , 140 °C por 60 min) + 60% γ -valerolactona	Hidrólise Ácida (0,05% H ₂ SO ₄ , 180 °C por 20 min) + 80% γ -valerolactona	Açúcares Fermentescíveis	70,7%	(QING <i>et al.</i> , 2018)
<i>Neosino calamus affinis</i>	Alcalino (0,5 % NaOH a 170 °C)	Hidrólise Enzimática (150 rpm, 50 °C por 72h)	Glicose	53,3%	(YANG, HAIYAN <i>et al.</i> , 2019)
<i>Phyllostachys heterocycla</i>	Ácido (1% H ₂ SO ₄ , a 160 °C por 60 min) + Ureia (8%)	Hidrólise Enzimática (150 rpm, 50°C por 48h)	Glicose	61,4%	(HUANG, CAO XING; LIN; <i>et al.</i> , 2019)
<i>Neosino calamus affinis</i>	Alcalino (0,5 % NaOH a 170 °C)	Hidrólise Enzimática (150 rpm, 50 °C por 72h)	Xilose	57,3%	(YANG, HAIYAN <i>et al.</i> , 2019)
<i>Bambusa blumeana</i>	Auto-Hidrólise (100 Mpa) + Alcalino (2% NaOH) a 121 °C por 120 min	Hidrólise Enzimática (200 rpm, 50 °C por 48h) seguido de uma Fermentação (<i>Sacharomyces cerevisiae</i> , 150 rpm, 37 °C, 24 h)	Etanol	89,7%	(JIANG; FEI; LI, 2016)
<i>Neosino calamus affinis</i>	Alcalino (0,5 % NaOH a 170 °C)	Hidrólise Enzimática (150 rpm, 50 °C por 72h) seguido de uma Fermentação (<i>Sacharomyces cerevisiae</i> , 35 °C, 24 h)	Etanol	4,8 g/L	(YANG, HAIYAN <i>et al.</i> , 2019)

3.3. Hidrólise Enzimática

A hidrólise enzimática dos materiais lignocelulósicos é considerada um dos métodos mais eficientes para a produção de bioprodutos. Além de ser bastante seletiva e permitir a obtenção de altos rendimentos destes biocompostos, ela pode ser de fácil controle ao mesmo tempo que requer condições brandas de pH e temperatura, minimizando a geração de compostos indesejáveis em etapas subsequentes, como o furfural e o hidroximetilfurfural, que acabam sendo gerados nos processos de hidrólise via rota química, ou por autohidrólise (SINGH; BANERJEE; ARORA, 2015).

Diversas enzimas estão envolvidas no processo de hidrólise de biomassas lignocelulósicas. Para a degradação da xilana presente na fração hemicelulósica, normalmente atuam-se enzimas principais, como endo- β -xilanasas e β -xilosidades, além de enzimas acessórias como as α -L-arabinofuranosidase, feruloilesterases, que melhoram a acessibilidade das principais, auxiliando nas suas atividades catalíticas. Já para a degradação da fração celulósica, há a ação de três principais grupos que podem agir sinergicamente, como as endoglucanases, celobihidrolases e as β -glicosidases. As mesmas enzimas acessórias, citadas anteriormente, também podem auxiliar estas enzimas principais na hidrólise da celulose (ZHANG, ZISHENG; DONALDSON; MA, 2012).

Tendo em vista a onerosidade dessas enzimas isoladas e/ou purificadas, pesquisadores vêm empregando coquetéis enzimáticos como uma forma eficiente de hidrolisar as paredes celulares das matrizes vegetais devido à ação combinada de um *pool* de enzimas com diferentes especificidades, permitindo assim que uma enzima atue sobre o produto de outra, melhorando de forma geral a eficiência do processo e proporcionando maiores rendimentos de produção. Atualmente grandes empresas comercializam uma variedade de coquetéis enzimáticos para diversos fins industriais, dentre elas a Novozymes acaba se destacando no ramo de hidrólise de biomassas lignocelulósicas, sendo um dos recentes desenvolvimentos a nova geração da família Cellic, Cellic[®] CTec3, que vem sendo bastante estudada e aplicada, tendo em vista a redução dos custos totais de produção de açúcares e etanol celulósico (LOPES; FERREIRA FILHO; MOREIRA, 2018).

Estudos que se propõe a definir quais enzimas, e suas proporções, são bastante importantes para hidrólise de matrizes lignocelulósicas uma vez que podem resultar em um design racional de misturas enzimáticas mais eficientes e menos onerosas, viabilizando assim a técnica para aplicações industriais. Além disso, o processo de hidrólise enzimática é fortemente influenciando pelas características e composição do material lignocelulósico

empregado, sendo preferidos os que contém altos teores de celulose e hemicelulose e baixo teor de lignina a fim de obter maiores rendimentos de produtos desejados, como oligossacarídeos, açúcares fermentescíveis, entre outros (GOLDBECK *et al.*, 2014).

3.4. Nanocelulose

Diante dos avanços da nanotecnologia nos últimos anos, pesquisadores do mundo todo vem buscando o desenvolvimento de nanomateriais com propriedades de interesse para as múltiplas aplicações (PIRES; SOUZA; FERNANDO, 2019). Neste aspecto, a nanocelulose tem se destacado, tendo em vista suas múltiplas propriedades e possibilidade de aplicações. A nanocelulose é definida como um material celulósico com pelo menos uma de suas dimensões (comprimento, largura ou diâmetro) dentro da escala nanométrica. A nanocelulose pode ser classificada em três: a nanocelulose cristalina (NCC), a nanocelulose fibrilada (NFC) e a nanocelulose bacteriana (BNC) (THOMAS *et al.*, 2020). Nesta revisão focaremos nos dois primeiros tipos, tendo em vista que podem ser obtidas a partir de biomassas lignocelulósicas, foco do trabalho.

A NCC, também conhecida por nanocristais de celulose ou celulose nanocristalina são termos utilizados para designar nanoestruturas de natureza cristalina de comprimentos de até 500 nm e largura de até 70 nm (MOON *et al.*, 2011). Se destacam por sua pureza química, estrutura rígida, resistência, apresentam capacidade de se dispersar facilmente e são normalmente anfífilicos (THOMAS *et al.*, 2020).

Atualmente a NCC é comumente obtida a partir da hidrólise ácida de biomassas lignocelulósicas ou isolado celulósico. O ácido sulfúrico é o principal reagente utilizado neste processo, normalmente em elevadas concentrações, garantindo principalmente boa estabilidade coloidal dos cristais. Outros ácidos como o fosfórico, clorídrico e o cítrico são utilizados como uma abordagem alternativa. De modo a promover uma produção comercial de NCC mais sustentável e ecologicamente correta, pesquisadores vêm desenvolvendo técnicas de recuperação para reutilização dos ácidos utilizados no tratamento, além de estudarem aplicações de outras técnicas menos abrasivas e mais ecológicas como a hidrólise enzimática, aplicação de ultrassom entre outras (CUI *et al.*, 2016).

A nanocelulose cristalina possui múltiplas aplicações industriais. Na indústria de alimentos tem sido utilizada principalmente em revestimentos, filmes e embalagens de alimentos, tendo em vista que promovem melhorias nas propriedades mecânicas dos polímeros,

além de também poder ser utilizada como ingrediente funcional (fibra alimentar), agente emulsificante e estabilizante. Na área médica, a NCC vêm sendo aplicada no desenvolvimento de materiais com grande potencial em terapias que envolvem a reparação, substituição e regeneração de tecidos e órgãos. Na indústria de materiais os nanocristais de celulose têm uma importante aplicação no desenvolvimento de polímeros de alta resistência, visando minimizar a dependência excessiva de plásticos e outros polímeros sintéticos (THOMAS *et al.*, 2020).

A NFC, também conhecida como nanofibras de celulose ou fibras de nanocelulose, são termos utilizados para designar as fibras celulósicas individuais nas nanodimensões, normalmente com diâmetro de largura menor que 100 nm e comprimento de poucos micrômetros (MOON *et al.*, 2011). As nanofibras de celulose apresentam propriedades interessantes, como baixa expansão térmica, alta proporção de aspecto, efeito de fortalecimento, boas propriedades mecânicas e ópticas. Devido a essas características específicas, as fibras de nanocelulose têm sido utilizadas em compósitos, embalagens de alimentos, aditivos de revestimento, aerogéis, membranas, como material de barreira a gases, cargas, floculantes, emulsificantes, espessantes de alimentos e material de reforço (CZAIKOSKI; DA CUNHA; MENEGALLI, 2020).

A quebra mecânica ou desfibrilação é um dos principais métodos utilizados para a produção de NFC, a partir das regiões amorfas da celulose presente nas biomassas lignocelulósicas. Outros métodos vêm também sendo utilizados em conjunto, no intuito de otimizar a produção de nanofibras possível, como por exemplo, a indução eletrostática, tratamentos enzimáticos, ultrassom e métodos oxidativos (THOMAS *et al.*, 2020).

Na tentativa de evitar o consumo significativo de ácidos, assim como também de economizar energia, evitando métodos mecânicos, pesquisadores vêm enfrentando desafios em produzir nanocelulose por rotas mais sustentáveis, simples e promissoras. Diante disso, a aplicação da hidrólise enzimática acaba sendo um método vantajoso, de alta eficiência, sem poluição, além de baixo consumo de energia. Além disso, outros tratamentos também vêm sendo empregados conjuntamente, como o tratamento ultrassônico, por exemplo, que proporciona um aumento da área de contato entre a enzima e o substrato, acelerando a reação. São poucos os trabalhos que relatam a produção de nanocelulose assistida por ultrassom e mais raras ainda são as pesquisas que envolvem a aplicação do colmo do bambu como matriz vegetal para produção de nanocelulose a partir destes tratamentos (CUI *et al.*, 2016).

3.5. Xilo-Oligossacarídeos

Atualmente, uma parcela significativa da população vem buscando hábitos de vida mais saudáveis, sendo os cuidados com a alimentação um dos mais pertinentes. Em consequência disto, pesquisadores vêm inovando em produtos alimentícios com propriedades nutracêuticas e funcionais de modo a atender este nicho de mercado (HONG *et al.*, 2019). Os conceitos de alimentos nutracêuticos e funcionais estão relacionados aos produtos ou ingredientes presentes nos mesmos, que proporcionam efeitos positivos na saúde e/ou bem-estar do consumidor além de melhorar seu valor nutritivo, como por exemplo, os prebióticos e probióticos, que atuam principalmente na regulação do sistema (OLIVEIRA; SILVA; PORTO, 2017).

Entre os prebióticos, os xilo-oligossacarídeos (XOS) estão entre os principais oligossacarídeos não digeríveis (NDOs), conhecidos como açúcares não convencionais e estão entre as classes de prebióticos mais estudadas e aplicadas atualmente, tornando-se de grande interesse para as indústrias alimentícias e farmacêuticas devido principalmente às suas excelentes características funcionais, promovendo, sob o ponto de vista fisiológico, diversos efeitos benéficos ao organismo (MANO *et al.*, 2017).

Quimicamente, os XOS são definidos como oligômeros constituídos por unidades de xilose, interligadas por meio de ligações β -1,4. Conforme a Figura 1, eles podem ser distinguidos através do seu grau de polimerização podendo ser classificados em xilobiose (2 monômeros), xilotriose (três monômeros), xilotretose (4 monômeros) e xilopentose (5 monômeros) (SAMANTA *et al.*, 2015).

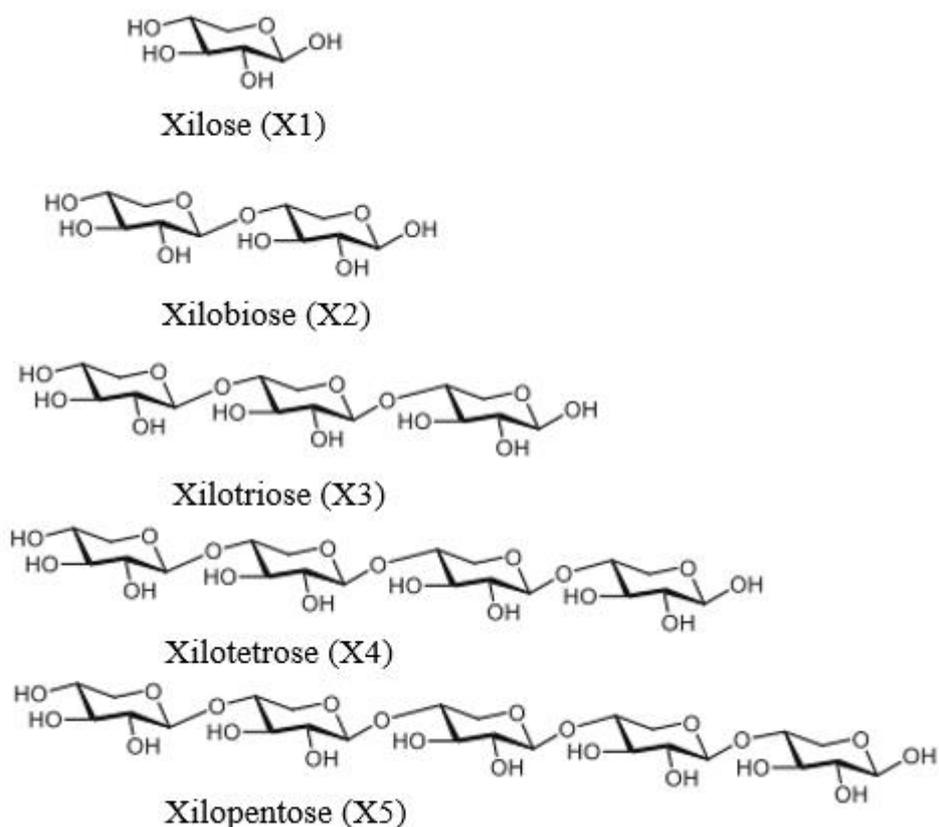


Figura 6. Estrutura Química dos Xilo-oligosacarídeos (Adaptado de MANO *et al.*, 2017).

Os xilo-oligosacarídeos são bastante conhecidos por suas propriedades prebióticas, uma vez que eles promovem o crescimento de culturas prebióticas no final trato gastrointestinal, como as do gênero *Lactobacillus sp.* e *Bifidobacterium sp.*, que auxiliam principalmente no combate da constipação intestinal, além de inibir o desenvolvimento de bactérias potencialmente patogênicas, como *Clostridium perfringes*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Estes prebióticos ainda apresentam atividade antioxidante, inibem o desenvolvimento de células cancerígenas, especialmente, no intestino delgado, no cólon e nos tecidos hepáticos; promovem a redução de níveis de glicose, triglicerídeos e colesterol sanguíneos, auxiliando no combate de diabetes mellitus e obesidade, e ainda podem atuar como agentes imunomoduladores, auxiliando no fortalecimento do sistema imunológico, principalmente no combate de doenças infecciosas (FREITAS; CARMONA; MICHEL, 2019; ZHANG, HONGYU; XU; YU, 2017).

Diante dessa diversidade de benefícios promovidos à saúde humana, existe um interesse por parte dos pesquisadores em empregar os XOS em diversos produtos, tendo assim uma ampla faixa de aplicações industriais. Na indústria farmacêutica, estes prebióticos são utilizados

principalmente na produção de medicamentos relacionados ao combate da obesidade e no tratamento de doenças gastrointestinais. Já na indústria alimentícia, além de atuarem como prebióticos, os XOS podem ser empregados como substitutos de açúcares e/ou gorduras, atuam como agentes conservantes, estabilizantes e gelificantes, podendo assim ser aplicados em formulações de sorvetes, sobremesas lácteas, biscoitos e produtos de panificação, barras de cereais, geleias, sucos, néctares, produtos de confeitaria, molhos, em alimentos simbióticos e etc.(FREITAS; CARMONA; MICHEL, 2019; SCOLFORO.; MADEIRA, 2013).

Estudos de mercado mostram que dentre os principais prebióticos comumente comercializados, os xilo-oligossacarídeos são os que apresentam o maior valor agregado, chegando a custar 30 US\$/kg. No ano de 2017 o mercado mundial de produção de XOS foi estimado em 93 milhões de dólares, tendo como projeções econômicas ascendentes para 2023 uma margem de aproximadamente US\$ 130 milhões (AMORIM *et al.*, 2019).

Os xilo-oligossacarídeos podem ser naturalmente encontrados em frutas, hortaliças e outros vegetais, além do mel, mas em baixas concentrações. Sua produção em larga escala ocorre por meio dos processos de hidrólise de biomassas lignocelulósicas (SAMANTA *et al.*, 2015). Além da obtenção destes prebióticos, por meio deste processo torna-se inerente a produção de açúcares fermentescíveis que podem ser aplicados para a produção de bioetanol, bioproduto este que está sendo alvo de diversas pesquisas nos últimos anos e que ainda compreende um desafio aos pesquisadores, que buscam condições otimizadas e que sejam economicamente viáveis de serem aplicadas (HE *et al.*, 2014).

3.6. Açúcares Fermentescíveis

Os açúcares fermentescíveis são definidos como os sacarídeos de cadeias simples que podem ser facilmente metabolizados por micro-organismos, servindo como fonte de carbono e que pode ser empregado para a produção de diversos bioprodutos. Um dos exemplos mais comuns e frequentes em que esse termo é empregado é para principalmente a produção de bioetanol, no qual leveduras são responsáveis por converter esses açúcares em biocombustível. Nos últimos anos esse processo vem instigando vários pesquisadores com o desafio de produzir altas quantidades desses açúcares, além de altos fatores de conversão, a partir do reaproveitamento de biomassas lignocelulósicas, auxiliando no desenvolvimento de processos economicamente viáveis que englobam a biorrefinaria (ZHANG, HONGYU; XU; YU, 2017).

A partir da fração celulósica, pode-se obter a glicose, que é o principal açúcar fermentescível, ele é pertencente à classe das hexoses e é amplamente empregado nos processos de fermentação para a produção de etanol e demais bioprodutos. Já a partir da fração hemicelulósica pode-se obter a xilana, que quando degradada, ocorre tanto a liberação dos xilo-oligossacarídeos, além da xilose, que é um outro açúcar fermentescível, sendo pertencente à classe das pentoses, também dessa fração pode ser obtido outros açúcares como galactose, arabinose, manose, ácido glucurônico e entre outros. Poucos micro-organismos são capazes de metabolizar de maneira eficiente pentoses à etanol, além disso, quando objetiva-se produzir XOS, é desejável que baixas quantidades de xilose sejam produzidas (ISIKGOR; BECER, 2015; ZHANG, HONGYU; XU; YU, 2017).

Na forma bruta, as biomassas lignocelulósicas não apresentam biodisponibilidade para a obtenção de açúcares fermentescíveis e outras substâncias de interesse, uma vez que atua como uma espécie de barreira física entre as frações celulósicas e hemicelulósicas e o meio externo, de modo que haja a necessidade de alguns métodos para resolver e contornar este problema (BANOTH et al., 2017). Diversas técnicas de pré-tratamento e/ou tratamento são descritas na literatura com a finalidade de hidrolisar as cadeias de xilana e celulose das biomassas lignocelulósicas como hidrólise química, que pode ser tanto alcalina como a ácida, o processo hidrotérmico, que consiste na aplicação de altas temperaturas e pressões; e a hidrólise enzimática que se destaca pela sua efetividade, além de ser usada concomitantemente com outras técnicas (HE *et al.*, 2014).

3.7. Bioetanol

Atualmente pesquisadores vêm investigando e aplicando tecnologias viáveis para o desenvolvimento de combustíveis renováveis a partir de biomassas lignocelulósicas, tendo em vista que esses possuem um grande potencial para mitigar a questão dos recursos finitos do petróleo e derivados. Neste panorama o bioetanol ou etanol lignocelulósico acaba se destacando por poder ser obtido a partir de biomassas lignocelulósicas, por meio de diferentes técnicas que podem proporcionar consideráveis rendimentos (HUANG, CHEN; FANG; *et al.*, 2020).

O bioetanol é produzido a partir da fermentação dos açúcares fermentescíveis obtidos da biomassa por meio da ação de enzimas celulolíticas e hemicelulolíticas, aos quais micro-organismos como a *Sacharomyces cerevisiae*, a principal levedura aplicada para o consumo de hexoses, por exemplo, são utilizadas para realizar esta bioconversão. Apesar da cana de açúcar ser a matéria-prima mais utilizada no Brasil para a produção deste biocombustível,

pesquisadores vêm também estudando a aplicação de outras matrizes vegetais que proporcionem rendimentos tão bons quanto a cana. Normalmente biomassas como o bambu, por exemplo, que apresentam altos teores de celulose e hemicelulose e baixos teores de lignina, acabam se tornando ideias podendo acarretar um processo consideravelmente eficiente para a produção de bioetanol (HE *et al.*, 2014; HUANG, CHEN; ZHAN; *et al.*, 2020).

O bioetanol pode ser produzido a partir da biomassa lignocelulósica pelo uso de micro-organismos em diferentes bioprocessos, como por exemplo a Hidrólise e Fermentação Separadas (SHF), processo mais tradicional em que a hidrólise enzimática e a fermentação ocorrem em tanques reacionais distintos, e por meio da Sacarificação e Fermentação Simultânea (SSF) em que a hidrólise enzimática está associada à fermentação no mesmo compartimento reacional (JOUZANI; TAHERZADEH, 2015).

No método SSF ao mesmo tempo em que as enzimas hidrolisam a biomassa, produzindo açúcares monoméricos, estes são convertidos em etanol por meio de micro-organismos fermentativos, de modo que não há acúmulo de produto de hidrólise no meio (SHAHSAVARANI *et al.*, 2013). A combinação das etapas de hidrólise e fermentação em um mesmo compartimento poderia reduzir custos associados a um número reduzido de tanques reacionais e energia. Entretanto, diversos parâmetros do processo fermentativo, como carga de sólidos, micro-organismo, concentração de enzimas, temperatura, pH, agitação acabam influenciando na produção eficiente de bioetanol, que devem atingir rendimentos tão bons quanto pelo método tradicional (JOUZANI; TAHERZADEH, 2015).

Na literatura são escassos os trabalhos que abordam a produção de bioetanol a partir do bambu, principalmente pelo processo SSF. Pelo processo de convencional, Jiang, Fei e Li (2016) utilizaram o colmo do bambu da espécie *Bambusa blumeana* pré-tratado por autohidrólise e por tratamento alcalino obtiveram um rendimento de 89,7% em bioetanol. Também pelo processo tradicional, Yang et al. (2019) utilizaram o colmo de bambu da espécie *Neosino calamus affinis* pré-tratado com 0,5 % de NaOH e obtiveram uma produção de 4,8 g/L de etanol.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Biomassas Lignocelulósicas

Foram estudadas como biomassas lignocelulósicas duas espécies de colmo de bambu, a *Bambusa vulgaris* variedade *vittata* de 2 anos de idade colhido no Instituto Agronômico de Campinas (IAC) e a *Dendrocalamus latiflorus* de 4 meses de idade colhida na Fazenda Jatobá, localizada no município de Pardinho em São Paulo. Ambas as espécies foram previamente submetidas à secagem em estufa de circulação de ar forçado à 65 °C, durante 24 horas, em seguida passou pelo processo de moagem e padronização para uma granulometria de 32 mesh (0,557 mm).

4.2. Caracterização Físico-química das Biomassas Lignocelulósicas

Ambas as amostras secas do colmo de bambu foram caracterizadas físico-quimicamente, estimando os teores de cinzas, extrativos, celulose, hemicelulose e lignina total, através da metodologia proposta pelo *National Renewable Energy Laboratory* (NREL) (SLUITER, et al., 2005). Os teores de cinzas foram determinados a partir da incineração das amostras na mufla a 575 °C. Os percentuais de extrativos foram estimados a partir da extração no Soxhlet de 1 g da amostra contida em cartuchos através de uma mistura na proporção de 1:1 de ciclohexano-etanol, durante 8 horas. Ao término da extração, a mistura de solventes foi substituída por água destilada, ao qual percorreu pelas amostras durante 24 horas. Em seguida, foram realizadas as etapas de filtração, secagem e pesagem das amostras. Após estarem livres dos extrativos, 0,3 g das amostras foram submetidas à hidrólise ácida com ácido sulfúrico 72% durante 1 hora, seguido de diluição até uma concentração final de 4% (m/v) por meio da adição de água destilada. A mistura foi autoclavada a 121°C durante 1 hora, arrefecida e filtrada através de um cadinho de fundo poroso (4-5 µm). O hidrolisado resultante foi coletado em balão volumétrico de 500 mL, sendo o volume do mesmo ajustado com água destilada, homogeneizado e armazenado para a determinação das concentrações de glicose, xilose, arabinose, ácido acético, furfural e hidroximetilfurfural (HMF), estimando assim os teores de celulose e hemicelulose. O teor de lignina solúvel foi estimado por meio do tratamento alcalino e em seguida através da leitura em espectrofotômetro a 280 nm. A lignina insolúvel será quantificada como a quantidade de sólido insolúvel, obtido a partir da massa de cinzas insolúveis. A lignina total foi determinada através da soma da lignina solúvel e insolúvel. Todas

as análises foram feitas em triplicata e os dados obtidos foram submetidos a Análise de Variância (ANOVA) e comparação de médias através do teste de Tukey a um nível de confiabilidade de 95% ($p < 0,05$), através do *software* estatístico Minitab 17.0. Abaixo são apresentadas as equações utilizadas para estimar os teores dessas análises de caracterização físico-química:

$$\text{Cinzas Totais (\%)} = \left(\frac{M_{cc} - M_c}{M_{bs}} \right) * 100 \quad (\text{Equação 1})$$

Sendo:

M_c : Massa do cadinho de porcelana tarado (g);

M_{bs} : Massa da amostra inicial (base seca) (g);

M_{cc} : Massa do cadinho de porcelana + cinzas totais (g).

$$\text{Extrativos (\%)} = \left(\frac{M_{bsm} - M_{be}}{M_{bsm}} \right) * 100 \quad (\text{Equação 2})$$

Sendo:

M_{bsm} : Massa do saquinho + amostra (g);

M_{be} : Massa do saquinho + amostra livre de extrativos (base seca) (g).

$$C_{LS} = \frac{[A_{280} * fd - [(C_{furf} * 146,85) + (C_{HMF} * 114)]] - 0,024}{21,65} \quad (\text{Equação 3})$$

$$\text{Lignina Solúvel (\%)} = \left[\frac{C_{LS} \left(\frac{g}{L} \right) * 0,084 L}{M_{BE}} \right] * \left[1 - \left(\frac{E}{100} \right) \right] * 100 \quad (\text{Equação 4})$$

Sendo:

A_{280} : Absorbância da amostra obtida da hidrólise em 280 nm;

fd : fator de diluição para a leitura;

C_{furf} : concentração de furfural (g/L) que deverá ser determinado através do HPLC;

C_{HMF} : concentração de hidroximetilfurfural (g/L) que deverá ser determinado através de HPLC;

C_{LS} : concentração de lignina solúvel (g/L);

L_S (%): teor de lignina solúvel, expresso em porcentagem massa por massa (% m/m);

M_{BE} : massa de biomassa livre de extrativos (g);

M_B : massa de biomassa;

E : teor de extrativos totais, expresso em porcentagem (% m/m).

$$M_{\text{cinzas}} = M_{CPC} - M_{CP} \quad (\text{Equação 4})$$

$$L_i (\%) = \left[\frac{M_{cpr} - (M_{\text{cinzas}} + M_{cp})}{M_{BE}} \right] * \left[1 - \left(\frac{E}{100} \right) \right] * 100 \quad (\text{Equação 5})$$

Sendo:

L_i : teor de lignina insolúvel (%);

M_{CPR} : massa do cadinho de placa porosa com os resíduos sólidos (g);

M_{Cinzas} : Massa de cinzas insolúveis em meio ácido (g);

M_{CP} : massa do cadinho de fundo poroso (g);

M_{BE} : massa de biomassa livre de extrativos (g);

M_B : massa de biomassa (g);

E : teor de extrativos (%).

$$\text{Lignina Total (\%)} = \text{Lignina insolúvel (\%)} + \text{Lignina solúvel (\%)} \quad (\text{Equação 6})$$

$$\text{Celulose (\%)} = \left[\left(\frac{(0,90 * C_{gli}) + (0,95 * C_{celo}) + (1,29 * C_{HMF}) + (3,53 * C_{Ac.Form})}{M_{BE}} \right) * 0,084 \right] * \left[1 - \left(\frac{E}{100} \right) \right] * 100$$

(Equação 7)

$$\text{Hemicelulose (\%)} = \left[\left(\frac{(0,88 * C_{xil}) + (0,88 * C_{arab}) + (0,72 * C_{ac\ acét}) + (0,91 * C_{Ac. Glic}) + (1,37 * C_{furf})}{M_{BE}} \right) * 0,084 \right] * \left[1 - \left(\frac{E}{100} \right) \right] * 100$$

(Equação 8)

Sendo:

CEL (%): teor de celulose da biomassa, expresso em (%);

C_{glic} : concentração de glicose (g/L);

C_{celo} : concentração de celobiose (g/L);

C_{HMF} : concentração de HMF (g/L);

$C_{\text{Ác. Fórm}}$: concentração de ácido fórmico (g/L);

Hemi (%): teor de hemicelulose da biomassa, expresso em (%);

C_{xil} : concentração de xilana (g/L);

C_{arab} : concentração de arabinose (g/L);

$C_{\text{Ác. Acético}}$: concentração de ácido acético (g/L);

$C_{\text{Ác. Gli}}$: concentração de ácido glicurônico (g/L);

C_{Furf} : concentração de furfural (g/L);

M_{BE} : massa de biomassa livre de extrativos ($0,3 \text{ g} \pm 0,02\text{g}$);

M_B : massa de biomassa (g);

E: teor de extrativos (%).

4.3. Extração da Celulose

Para esta análise foi selecionada a espécie de colmo bambu que continha o maior percentual de celulose. Inicialmente a biomassa lignocelulósica selecionada foi imersa na proporção de 1:50 (m/v) em uma solução composta clorito de sódio (NaClO_2) 0,7% (m/v) e bissulfato de sódio (Na_2SO_4) 5% (m/v) tamponados em pH 4 com ácido acético glacial e posteriormente submetidos em banho a 80°C por um período de 2 horas, de forma a obter a fração holocelulósica (α -celulose + hemicelulose), a partir da remoção gradual de lignina. Em seguida foi realizado o tratamento da holocelulose produzida com uma solução de hidróxido de sódio (NaOH) a 17,5% (m/v), removendo a fração hemicelulósica de modo a se obter apenas a fração α -celulose. Dessa forma a suspensão foi filtrada, lavada com água destilada, e submetida ao processo de secagem em estufa a 65°C até peso constante, conforme o descrito por Morán *et al.* (2008). O rendimento e a eficiência de extração foram calculadas a partir das equações 9 e 10.

$$\text{Rendimento de Extração (\%)} = \frac{\text{massa de celulose extraída (g)}}{\text{massa de amostra (g)}} \times 100\% \text{ (Equação 9)}$$

$$\text{Eficiência de Extração (\%)} = \frac{\text{massa de celulose extraída (g)}}{\text{massa de celulose da amostra (g)}} \times 100\% \text{ (Equação 10)}$$

4.4. Caracterização da Celulose Extraída do Colmo de Bambu

4.4.1. Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de infravermelho da celulose extraída do colmo de bambu foram obtidos por meio da preparação da amostra em pastilhas de brometo de potássio (KBr) na proporção de 0,5:100 (g de amostra/ g de KBr). As pastilhas foram analisadas no espectrofotômetro de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) da marca *Thermo Scientific*, modelo Nicolet 6700 (Madison, EUA). A análise foi realizada no modo transmitância utilizando o acessório Snap-in Baseplate (método KBr) em uma faixa de 4000-400 cm^{-1} conforme Gowdhaman, Ponnusami (2015).

4.4.2. Análise Termogravimétrica (TGA)

Para analisar a estabilidade térmica da celulose extraída do colmo de bambu, foram pesados 10 mg da mesma, ao qual foi submetida ao aquecimento, a uma taxa de 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$, no intervalo de 25 a 1000 $^{\circ}\text{C}$ sob atmosfera de nitrogênio conforme Gowdhaman, Ponnusami (2015) no Analisador Termogravimétrico da marca Mettler e modelo TGA/DSC1.

4.5. Aproveitamento Biotecnológico da Fração Celulósica do Colmo do Bambu

4.5.1. Atividade de Celulases Totais

Para este ensaio foi utilizado a metodologia proposta por Ghose (1987). Foi utilizado como substrato o papel filtro de dimensões de 1,0 por 6,0 com (aproximadamente 50 mg). Em seguida, adicionou-se a este substrato 0,5 mL do extrato enzimático diluído em tampão citrato 0,05 M e pH 4,8, incubando a 50 $^{\circ}\text{C}$ durante 1 hora. Adicionou-se 3 mL do reagente ácido dinitrosalicílico (DNS), misturando e incubando em banho em ebulição durante 5 minutos. A reação foi interrompida após colocar as amostras em banho de gelo, adicionando posteriormente 20 mL de água destilada. Os açúcares redutores foram estimados a partir da leitura das amostras em espectrofotômetro a 540 nm. A curva de calibração foi realizada com glicose nas concentrações de 1 a 10 mg/mL. Uma unidade da atividade de enzima (FPU) é baseada na liberação de 2,0 mg de glicose equivalente em mols do volume de enzima adicionada a cada

ensaio (0,5 mL), e no tempo de incubação requerido (60 minutos) para a geração dos equivalentes (enzima diluída).

4.5.2. Produção de Nanocelulose

Para a obtenção da nanocelulose, foi empregada a metodologia proposta por Cui *et al.* (2016) com algumas modificações. Foram empregadas tanto a celulose extraída do colmo de bambu como a própria farinha integral desta mesma biomassa lignocelulósica para a hidrólise enzimática. Aproximadamente 20 mg de amostra foram pesados em microtubos de 1,5 mL adicionando em seguida 1 mL do coquetel enzimático Celluclast 1.5 L da Novozymes® diluído em tampão acetato 0,05 M a pH 5 com concentração final de 10 FPU/g de celulose. As amostras foram incubadas em banho termostático à 50 °C durante 72 h. Foram retiradas amostras nos tempos de 24, 48 e 72 h com o objetivo de avaliar o melhor tempo de hidrólise enzimática para a produção de nanocelulose. Tanto as amostras da celulose extraída como da farinha integral do colmo de bambu, foram submetidas também ao tratamento com ultrassom de uma frequência média de 55 hz durante 1 h no equipamento Eurosonics a cada 23 horas de hidrólise enzimática. Após os tratamentos enzimáticos, nos seus respectivos tempos, as amostras foram incubadas em banho termostático a 99 °C com o objetivo de inativar as enzimas e conseqüente interromper o processo de hidrólise. Posteriormente a suspensão foi centrifugada a uma velocidade de 10000 rpm à temperatura ambiente (25 °C) durante 15 minutos. Em seguida a nanocelulose foi suspendida em água deionizada e separada do precipitado não hidrolisado. Por último as suspensões coloidais foram armazenadas em freezer e em seguida foram submetidas ao processo de liofilização, permitindo a quantificação em massa para o cálculo do rendimento de produção de nanocelulose, conforme a equação 11. Todas as análises foram feitas em duplicata e os dados obtidos foram submetidos a Análise de Variância (ANOVA) e comparação de médias através do teste de Tukey a um nível de confiabilidade de 95% ($p < 0,05$), através do *software* estatístico Minitab 17.0.

$$\text{Rendimento de Nanocelulose (\%)} = \frac{\text{massa de nanocelulose (g)}}{\text{massa de celulose da amostra (g)}} \times 100\% \quad (\text{Equação 11})$$

4.5.3. Produção de Glicose

Para obtenção da glicose, foram realizadas hidrólises enzimáticas baseadas na metodologia proposta por Goldbeck *et al.*, 2016 com algumas modificações, utilizando Delineamentos Compostos Centrais Rotacionais (DCCR) de 11 ensaios contemplando as 3 repetições nos pontos centrais com a farinha integral do colmo de bambu de maior teor de celulose e com a própria celulose extraída desta mesma biomassa lignocelulósica. Foram pesados 20 mg de amostra em microtubos de 1,5 mL e adicionou-se 1 mL do coquetel enzimático Cellic CeTec2 da Novozymes® diluído em tampão acetato 0,05 M a uma concentração final de 10 FPU/g de celulose, sendo posteriormente incubadas no termobloco a uma agitação de 1000 rpm. Os planejamentos foram avaliados em três diferentes tempos de hidrólise, 24, 48 e 72 h. Após estes períodos, as amostras foram centrifugadas a uma velocidade de 10000 rpm por 15 min a uma temperatura de 4 °C. O sobrenadante foi recolhido para posterior quantificação de açúcares produzidos. As variáveis independentes avaliadas dos planejamentos foram a temperatura e o pH, tendo como variável resposta a eficiência de hidrólise calculada conforme a equação 12. A Tabela 3 apresenta os níveis com as respectivas variáveis utilizados nos DCCRs. A análise estatística do planejamento fatorial foi realizada através do software Statistica 7.0.

$$\text{Eficiência de Hidrólise (\%)} = \frac{\text{concentração de glicose (g/L)}}{\text{concentração de celulose da amostra (g/L)}} \times 100\% \quad (\text{Equação 12})$$

Tabela 3. Níveis utilizados nos DCCRs para Hidrólise Enzimática da Celulose do Colmo de Bambu.

Variáveis	Níveis				
	(-1,41)	(-1)	(0)	(+1)	(+1,41)
Temperatura (°C)	35,9	40	50	60	64,1
pH	3,59	4,0	5,0	6,0	6,41

4.5.4. Produção de Bioetanol

4.5.4.1. Preparação do Inóculo

As células da linhagem industrial *Saccharomyces cerevisiae* PE-2 foram transferidas de uma única colônia da superfície de uma placa de petri contendo o meio composto por 1% extrato de levedura, 2% de peptona, 2% de glicose e 2% de ágar (YPDA) para um erlenmeyer aletado de 500 mL contendo 300 mL de meio sintético estéril composto por 1% extrato de levedura, 2% de peptona, 2% de glicose (YPD). Os erlenmeyers foram incubados a 30 °C e 200 rpm por 16 horas em agitador orbital New Brunswick Scientific, modelo Innova 4430. Após o crescimento do inóculo, as células foram obtidas por centrifugação (centrífuga Nova Técnica - modelo NT810) à 3.000 rpm por 5 minutos, sendo ressuspensas em água estéril para obter uma absorbância à 600 nm (Abs_{600}) equivalente à concentração de 5 g/L, mediante curva de calibração (densidade óptica versus massa seca) (BASSOS *et al.*, 2008).

4.5.4.2. Hidrólise e Fermentação Separadas (SSH)

Para este ensaio foi utilizado a metodologia proposta por Teixeira *et al.*, (2019) com algumas modificações. Os ensaios foram realizados em agitador orbital (New Brunswick Scientific - modelo Innova 4430), utilizando frascos rosqueados de 70 mL, dos quais 50 mL foram preenchidos com o hidrolisado celulósico do colmo do bambu estéril (121° C por 15 minutos) referente ao melhor ensaio dos DCCRs realizados. O processo fermentativo ocorreu na condição de 30 °C e 150 rpm, com retiradas de alíquotas de 1 mL nos tempos 0, 6, 10, 24 e 48 horas. As alíquotas foram congeladas à -20 °C para análises posteriores do açúcar consumido e do etanol produzido.

4.5.4.3. Hidrólise e Fermentação Simultânea (SSF)

Para este processo foi utilizado 50 mL de uma suspensão estéril contendo 1 g de celulose extraída do colmo de bambu em tampão citrato 0,05 mol/L pH 5,0 (carga de sólidos de 2%); adicionado de um volume do coquetel comercial Cellic CeTec2 de modo a obter a concentração final de 10 FPU/g de celulose, equivalente à aplicada para obtenção do hidrolisado utilizado na SHF. A fermentação também ocorreu na condição de 30 °C e 150 rpm, com retiradas de

alíquotas de 1 mL nos tempos 0, 10, 24, 48 e 72 h. As alíquotas foram congeladas à -20 °C para análises posteriores do açúcar consumido e do etanol produzido, conforme Huang, Chen; Zhan; *et al.*, (2020) com modificações.

4.5.5. Quantificação dos Açúcares e Produtos de Fermentação

As concentrações dos açúcares e dos produtos durante os processos fermentativos, foram determinados por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), utilizando cromatógrafo modelo Accela da Thermo Scientific® e separação por coluna modelo HPX mantida à 37 °C. A fase móvel será uma solução de H₂SO₄ (0,1mM), pH 2,6, com vazão de 0,6 mL/min.

4.5.6. Determinação dos Parâmetros Cinéticos dos Processos Fermentativos

Os rendimentos de produção de etanol em substrato ($Y_{P/S}$), o rendimento teórico de produção de etanol (Y_{P/S^*}), a produtividade de etanol (P_P) e a produtividade máxima de etanol (P_{P^*}) foram calculadas a partir das equações abaixo, conforme Huang *et al.*, (2020) e Teixeira *et al.*, (2019).

$$Y_{P/S} (\%) = \frac{\text{concentração de etanol final (g/L)}}{S_0 - S_f \text{ (g/L)}} \times 100\% \quad (\text{Equação 13})$$

$$Y_{P/S^*} (\%) = \frac{\text{concentração de etanol final (g/L)}}{S_0 \times 0,51 \text{ (g/L)}} \times 100\% \quad (\text{Equação 14})$$

$$P_P \text{ (g/L.h)} = \frac{\text{concentração de etanol final (g/L)}}{\text{tempo total de fermentação (h)}} \quad (\text{Equação 15})$$

Em que S_0 é a concentração de glicose inicial, S_f é a concentração de glicose final.

4.6. Extração da Xilana

Para esta análise foi selecionada a espécie de colmo bambu que continha o maior percentual de hemicelulose. A xilana foi previamente extraída da biomassa lignocelulósica selecionada de acordo com a metodologia proposta por Zilliox e Debeire (1998) com algumas modificações propostas por Akpinar *et al.*, (2010). Inicialmente a matriz vegetal foi mantida em água destilada a 60 °C por 16 horas com agitação contínua de 120 rpm, sendo posteriormente seca em estufa a 65 °C. Foram avaliadas 5 diferentes concentrações de farinha de bambu rica em hemicelulose 40, 60, 80, 100 e 120 g/L as quais foram imersas em solução extratora composta por solução 24% (m/v) de hidróxido de potássio (KOH) e 1% (m/v) de borohidreto de sódio (NaBH₄). O extrato foi centrifugado a uma velocidade de 5000 rpm por 20 minutos seguido por filtração em papel de filtro. A xilana contida na fração de líquida foi precipitada por meio da aplicação de uma solução composta por 91% (v/v) de etanol frio e 9% (v/v) de ácido acético e filtrada posteriormente em papel de filtro. Após a filtração, o sólido foi seco em estufa a 65 °C e macerado com o auxílio de um almofariz e pistilo. Todos os ensaios foram realizados em triplicata. O rendimento e a eficiência de extração foram calculados conforme as equações 13 e 14. Os dados obtidos foram submetidos a Análise de Variância (ANOVA) e comparação de médias através do teste de Tukey a um nível de confiabilidade de 95% ($p < 0,05$), através do *software* estatístico Minitab 17.0.

$$\text{Rendimento de Extração (\%)} = \frac{\text{massa de xilana obtida (g)}}{\text{massa de amostra (g)}} \times 100\% \text{ (Equação 13)}$$

$$\text{Eficiência de Extração (\%)} = \frac{\text{massa de xilana obtida (g)}}{\text{massa de hemicelulose da amostra (g)}} \times 100\% \text{ (Equação 14)}$$

4.7. Caracterização da Xilana Extraída do Colmo de Bambu

4.7.1. Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de infravermelho da xilana extraída do colmo de bambu foram obtidos por meio da preparação da amostra em pastilhas de brometo de potássio (KBr) na proporção de 0,5:100 (g de amostra/ g de KBr). As pastilhas foram analisadas no espectrofotômetro de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) da marca *Thermo Scientific*, modelo Nicolet 6700 (Madison, EUA). A análise foi realizada no modo transmitância utilizando o

acessório Snap-in Baseplate (método KBr) em uma faixa de 4000-400 cm^{-1} conforme Gowdhaman, Ponnusami (2015).

4.7.2. Análise Termogravimétrica (TGA)

Para analisar a estabilidade térmica da xilana extraída do colmo de bambu, foram pesados 10 mg da mesma, ao qual foi submetida ao aquecimento, a uma taxa de 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$, no intervalo de 25 a 1000 $^{\circ}\text{C}$ sob atmosfera de nitrogênio conforme Gowdhaman, Ponnusami (2015) no Analisador Termogravimétrico da marca Mettler e modelo TGA/DSC1.

4.8. Aproveitamento Biotecnológico da Xilana do Colmo do Bambu

4.8.1. Atividade de Endoxilanase

A atividade de endo-1,4-xilanase foi avaliada a partir da adição de 500 μL de xilana solúvel a 2% e 0,1 mL de extrato enzimático diluído em tampão acetato de sódio 50 mM, pH 5,0, misturados a 45 $^{\circ}\text{C}$ durante 30 minutos com volume total de 1 mL, conforme a metodologia proposta por Da Silva, *et al.*, (2011). Após esta reação, foram quantificados os açúcares redutores resultantes através do método DNS proposto por Miller (1959), ao qual misturou-se 100 μL de amostra mais 100 μL do reagente ácido dinitrosalicílico (DNS) por 5 minutos sob temperatura de ebulição, colocando em seguida a mistura em banho de gelo para interromper a reação e adicionando posteriormente 200 μL de água destilada. As amostras foram encaminhadas para o espectrofotômetro e foram lidas a 540 nm. A curva de calibração foi construída utilizando xilose como padrão nas concentrações de 1,0 a 10,0 mg/mL. Uma unidade de endoxilanase foi definida como a quantidade de enzima necessária para produzir 1 μmol de açúcares redutores expresso em xilose sob as condições reacionais.

4.8.2. Determinação da Concentração Enzimática

A concentração enzimática da endoxilanase foi estimada a partir do método de determinação de proteína proposto por Lowry (1951). Foram misturadas 25 μL de amostra mais 250 μL de solução C reagente, composta por 50 partes de NaOH a 0,1 M mais Na_2CO_3 a 2% para 1 parte de CuSO_4 1% mais tartarato de sódio e potássio anidro a 2%. A mistura e foi homogeneizada em vórtex, ficou em repouso durante 10 min, adicionou-se o reagente Folin 1N,

homogeneizando em seguida em vórtex e deixando no escuro por 20 min. Após esse período as amostras foram lidas a 660 nm. A curva de calibração foi realizada com a albumina sérica bovina variando as concentrações de 0,1 a 1 mg/mL.

4.8.3. Curva de Saturação Enzimática

Com o intuito de determinar a mínima concentração enzimática que proporcionará a máxima velocidade de reação de hidrólise da xilana, conforme Ávila *et al.*, (2020), foi construída a curva de saturação enzimática da endoxilanasase em uma faixa de concentração de 1,5 a 15 mg de proteína/ g de xilana. Todas as análises foram realizadas em duplicata sendo os dados obtidos submetidos a Análise de Variância (ANOVA) e comparação de médias através do teste de Tukey a um nível de confiabilidade de 95% ($p < 0,05$), através do *software* estatístico Minitab 17.0.

4.5.4. Produção de Xilo-oligossacarídeos

Para obtenção dos XOS a partir da xilana extraída do colmo de bambu, foram realizadas hidrólises enzimáticas baseadas na metodologia proposta por Goldbeck *et al.*, 2016 com algumas modificações, utilizando o Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) de 11 ensaios contemplando as 3 repetições nos pontos centrais. Foram pesados 20 mg de amostra em microtubos de 1,5 mL e adicionou-se 1 mL do coquetel enzimático Shaerozyme da Novozymes® que contém endoxilanasas, diluído em tampão acetato 0,05 M na melhor concentração determinada pela curva de saturação enzimática, sendo posteriormente incubadas no termobloco a uma agitação de 1000 rpm. O planejamento foi realizado em três diferentes tempos de hidrólise, 24, 48 e 72 h. Após estes períodos, as amostras foram centrifugadas a uma velocidade de 10000 rpm por 15 min a uma temperatura de 4°C. O sobrenadante foi recolhido para posterior quantificação dos prebióticos produzidos. As variáveis independentes avaliadas dos planejamentos foram a temperatura e o pH, tendo como variável resposta a concentração de XOS totais. A Tabela 4 apresenta os níveis com as respectivas variáveis utilizados nos DCCRs. A análise estatística dos planejamentos foi realizada através do *software* Statistica 7.0 (STATSOFT, 2008).

Tabela 4. Níveis utilizados nos DCCRs para Hidrólise Enzimática da Xilana Extraída do Colmo de Bambu.

Variáveis	Níveis				
	(-1,41)	(-1)	(0)	(+1)	(+1,41)
Temperatura (°C)	35,9	40	50	60	64,1
pH	3,59	4,0	5,0	6,0	6,41

4.5.5. Quantificação dos Xilo-oligossacarídeos

A quantificação dos XOS resultantes da hidrólise enzimática da xilana extraída do colmo do bambu foi realizada por meio da cromatografia de troca iônica com detecção amperométrica pulsada (HPLC-PAD), utilizando o cromatógrafo Dionex® (Sunnyvale, CA, Estados Unidos) equipado com a coluna Carbopac PA-100 (4 x 250 mm) e uma coluna de proteção Carbopac PA-100 (4 x 50 mm), bomba GP50, detector eletroquímico ED40 e um detector de índice de refração que adotou um gradiente linear de A (NaOH 50 mM) e B (Acetato de Sódio 500 mM mais NaOH 50 mM) utilizando o *software* PEAKNET. As áreas de pico integradas foram ajustadas com base em padrões da Megazyme®: xilobiose (X₂), xilotriose (X₃), xilotretose (X₄), xilopentose (X₅) e xilohexose (X₆).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Caracterização Físico-química das Biomassas Lignocelulósicas

A Tabela 5 demonstra a composição físico-química em base seca das espécies de duas espécies de colmo de bambu *Bambusa vulgaris* variedade *vittata* e *Dendrocalamus latiflorus*. Em todos os parâmetros determinados pode-se observar que houve diferenças significativas a um nível de confiabilidade de 95% por meio da Análise de Variância e Teste de Tukey. As diferenças e discrepâncias entre os valores dependem da composição química, física e anatômica dos materiais lignocelulósicos e, também, da espécie, variedade, tipo de solo, condições climáticas, idade da planta, entre outros (GUIMARÃES *et al.*, 2013).

Tabela 5. Composição Química em Base Seca de Diferentes Espécies de Colmo de Bambu.

Composição (%)	<i>B. vulgaris</i>	<i>D. latiflorus</i>
Celulose (%)	48,20 ± 0,55 ^a	42,06 ± 1,65 ^b
Hemicelulose (%), sendo:	18,79 ± 0,48 ^b	26,42 ± 1,01 ^a
<i>Xilana</i> (%)	18,40 ± 0,45 ^b	25,42 ± 0,90 ^a
<i>Grupos Arabinose</i> (%)	0,39 ± 0,03 ^b	1,00 ± 0,11 ^a
Lignina Total (%)	18,70 ± 0,79 ^a	12,56 ± 0,53 ^b
Extrativos (%)	11,93 ± 0,88 ^b	14,91 ± 0,52 ^a
Cinzas (%)	2,23 ± 0,13 ^a	1,36 ± 0,04 ^b
Total (%)	99,85	97,31

*Médias que não compartilham uma mesma letra são significativamente diferentes, com 95% de confiança ($p \leq 0,05$).

O percentual de celulose corresponde uma das frações de maior interesse do ponto de vista do aproveitamento biotecnológico, uma vez que como é formada por uma cadeia de unidades de glicose, ela pode ser aplicada para obtenção dos mais diversos biocompostos, como açúcares, prebióticos, bioetanol, ácidos orgânicos, entre outros (HE *et al.*, 2014). Conforme os resultados obtidos, observa-se que ambas as espécies avaliadas apresentaram elevados teores de celulose, sendo até maiores do que biomassas comumente empregadas em processos biotecnológicos. A espécie de bambu *B. vulgaris* apresentou o maior percentual de celulose (48,20%) enquanto a espécie *D. latiflorus* demonstrou um teor de 42,06%. Drumond e Wiedman (2017) obtiveram um percentual de 45% de celulose para o *B. vulgaris*, enquanto

Hernandez-Mena, Pecora, Beraldo (2014) para o *D. giganteus* foi encontrado um teor de celulose de 47,5%. Antônio Bizzo *et al.*, (2014) em seus estudos encontraram teores de celulose para o bagaço e palha de cana de 35,3% e 36,7%, respectivamente; enquanto Huang *et al.* (2019) obtiveram um percentual de 32,7% de celulose para a palha do milho. Tendo em vista o maior percentual de celulose encontrado entre as amostras analisadas, foi selecionada a espécie de colmo de bambu *Bambusa vulgaris* variedade *vittata* para os estudos de aproveitamento da fração celulósica do colmo de bambu, apresentados posteriormente.

Assim como a celulose, o teor de hemicelulose de biomassas lignocelulósicas consideravelmente interessante para aplicações em bioprocessos, tendo em vista sua composição heterogênea formada por diferentes açúcares como arabinose, galactose, manose interligados no componente majoritário desta porção, a xilana, porção esta de grande interesse para obtenção de prebióticos, como os xilo-oligossacarídeos, e xilose (DA SILVA; *et al.*, 2020). Conforme os resultados obtidos, ambas as espécies de colmo de bambu estudadas apresentaram elevados teores de hemicelulose, sendo o *D. latiflorus* com o maior percentual de 26,42% composto de 25,42% de xilana e 1% de grupos arabinose, enquanto o *B. vulgaris* apresentou um percentual de 18,79 % composto por 0,39 % de grupos arabinose e 18,40% de xilana. Ao caracterizar o bambu *Phyllostachys heterocycla* Britto *et al.* (2015) obtiveram um teor de hemicelulose de 23%, enquanto Drumond e Wiedman (2017) obtiveram um percentual de 21% de hemicelulose para o *B. vulgaris*. Hernandez-Mena, Pecora, Beraldo (2014) obtiveram para o *D. giganteus* um teor de hemicelulose de 15,4%. Antônio Bizzo *et al.*, (2014) em seus estudos de caracterização encontraram percentuais de hemicelulose para o bagaço e palha de cana de 22,9% e 20,5%, respectivamente; enquanto Sorn *et al.* (2019) obtiveram um percentual de 15,7% de hemicelulose para a palha de arroz. Tendo em vista o maior percentual de hemicelulose e conseqüentemente maior teor de xilana encontrado entre as amostras analisadas, foi selecionada a espécie de colmo de bambu *Dendrocalamus latiflorus* para os estudos de aproveitamento da fração xilana presente no colmo de bambu, apresentados posteriormente.

O teor de lignina total pode ser um fator decisivo para a escolha de uma determinada biomassa lignocelulósica para ser aplicada em um determinado processo, tendo em vista que são desejáveis menores valores deste componente, uma vez que este composto intensifica a recalitrância das matrizes vegetais e acaba protegendo e mantendo a integridade da celulose e hemicelulose seja por tratamentos químicos, físicos e/ou enzimáticos (BICHOT *et al.*, 2018). Diante os resultados obtidos, observa-se que a espécie *D. latiflorus* apresentou um menor teor de lignina total (12,56%) quando comparado com *B. vulgaris* (18,7%). Hernandez-Mena,

Pecora, Beraldo (2014) encontraram um teor de lignina total de 26,3 % para o bambu da espécie *D. giganteus* Munro, enquanto Brito *et al.*, (2015) encontraram um percentual de lignina total de 23% para o colmo de bambu *Phyllostachys heterocycla*. Quando comparadas com outras matrizes vegetais, observa-se que os teores de lignina encontrados para o *D. latiflorus* e o *B. vulgaris* foram próximos ou até mesmo inferiores, indicando que ambas as espécies poderiam ser aplicadas em bioprocessos a depender dos objetivos desejados. Antônio Bizzo *et al.*, (2014) em seus estudos encontrou teores de lignina total para o bagaço e palha de cana de 14,7% e 11,5%, respectivamente; enquanto Sorn *et al.*, (2019) observou um percentual total de lignina de 20% para a palha de arroz.

O percentual de extrativos é outro importante parâmetro composicional das biomassas lignocelulósicas e que indica o conteúdo de ácidos graxos, álcoois de cadeia longa, ceras, resinas, esteroides, compostos fenólicos e glicosídeos solúveis em água e em solventes orgânicos presentes nas mesmas (GUIMARÃES *et al.*, 2013). Diante os resultados obtidos, observa-se que ambas as variedades estudadas apresentaram elevados teores de extrativos. A espécie *D. latiflorus* apresentou um maior percentual (14,91%) quando comparada com a espécie *B. vulgaris* (11,93%). Daza *et al.*, (2013) em seus estudos verificaram percentuais de extrativos de 18,02% para o colmo de bambu da espécie *Bambusa vulgaris* e 11,97% para espécie *Dendrocalamus strictus*, enquanto que Hernandez-Mena, Pecora, Beraldo (2014) encontraram em suas pesquisas um teor de extrativos de 4,9% para o bambu *D. giganteus* Munro.

O teor de cinzas é um parâmetro físico-químico que indica o percentual de minerais presente nas biomassas lignocelulósicas. Apesar de serem consideravelmente importantes como nutrientes para os micro-organismos, uma vez que são necessários para o desenvolvimento da biomassa e para impulsionar as reações de biossíntese e manutenção celular, servindo de cofatores para as enzimas, altos teores de cinzas podem promover um efeito reverso, inibindo os bioprocessos (SANTOS; *et al.*, 2007; SILVA; *et al.*, 2016). Conforme os resultados obtidos na Tabela 5 foram observados baixos de teores de cinzas, condizentes com a literatura. A espécie *B. vulgaris* apresentou um maior percentual (2,23%) quando comparada com a espécie *D. latiflorus* (1,36%). Ao avaliar a composição do colmo de bambu *Dendrocalamus giganteus* de 2 anos de idade, Marinho *et al.*, (2012) obtiveram um teor de cinzas de 0,74%. Guimarães *et al.*, 2013 relatam em seu trabalho um teor de cinzas de 2,06 % do colmo de bambu *Bambusa vulgaris* variedade *Schrad.*

5.2. Extração da Celulose

O colmo de bambu da espécie *Bambusa vulgaris* variedade *vittata* selecionado foi submetido ao processo de extração de celulose, no qual obteve-se um rendimento de extração médio de 41,87%, enquanto a eficiência média obtida do processo foi de 86,87%. O rendimento de extração indica a relação entre a quantidade de celulose obtida e a massa de amostra de farinha integral do colmo de bambu submetida ao processo. Já a eficiência de extração indica a relação entre a massa de celulose obtida e a massa de celulose presente na amostra da farinha integral do colmo de bambu. Os resultados obtidos demonstram que a técnica utilizada é consideravelmente interessante, uma vez que proporcionou alto rendimentos e eficiência de extração, o que baseado nesses cálculos teóricos poderia ser viável tendo em vista o seu potencial de aplicações biotecnológicas. Ao avaliar a extração da celulose do colmo de bambu da espécie *Phyllostachys sulphurea* com tratamento alcalino e com tratamento alcalino mais líquido iônico Yang *et al.*, (2013) obtiveram rendimentos de extração de 29,62% e 20,88% respectivamente. Há uma escassez considerável na literatura de trabalhos que abordem a técnica de extração de celulose em colmos de bambu.

5.3. Caracterização da Celulose Extraída do Colmo de Bambu

5.3.1. Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A Figura 7 apresenta as bandas que formam o Espectro de Absorção de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) da celulose extraída do colmo de bambu *B. vulgaris*. A partir desta análise foi possível caracterizar a estrutura química da fração lignocelulósica estudada por meio da identificação dos principais grupos funcionais presentes na amostra (XU, FEI XIANG *et al.*, 2020). Através na análise do diagrama espectral obtido observa-se a formação de duas regiões principais de absorção. A primeira em comprimentos de onda baixos, no intervalo $430 - 1.650 \text{ cm}^{-1}$ e a segunda em comprimentos de onda mais altos no intervalo $2800 - 3500 \text{ cm}^{-1}$. No entanto, picos de absorção específicos podem ser identificados para cada componente particular por banda de absorção. Foram identificadas bandas em $559,35 \text{ cm}^{-1}$, $617,11 \text{ cm}^{-1}$ e $898,85 \text{ cm}^{-1}$. As bandas nessa região abaixo de 1000 cm^{-1} são atribuídas para identificação do esqueleto da molécula contendo deformações exocíclicas e da presença de ligações do tipo C-O-C na estrutura. A banda em torno de 870 cm^{-1} é característica da região

anomérica indicando a conformação do tipo α da cadeia de celulose (ABREU *et al.*, 2012; OH *et al.*, 2005).

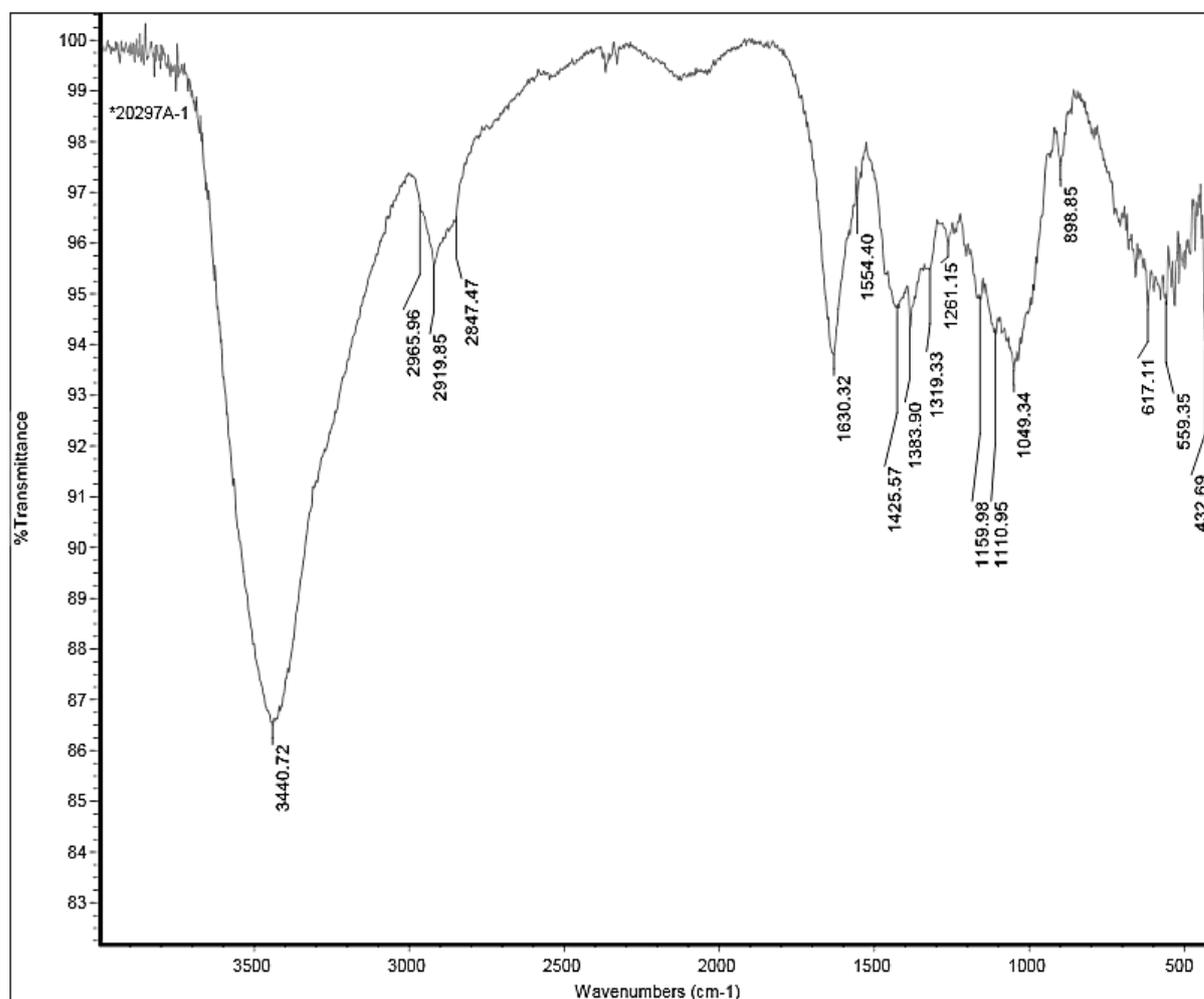


Figura 7. Espectro de Absorção no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) da Celulose Extraída do Colmo do Bambu *Bambusa vulgaris* Variedade *vittata*.

A banda de 1049,34 cm^{-1} indica as vibrações de estiramento do grupo C-O-C, a partir das ligações glicosídicas e flexões dos agrupamentos O-H a partir dos álcoois. A banda de 1425,57 cm^{-1} demonstra deformações de ligações do tipo H-C-H e CH_2OH . A banda em torno do 1630 cm^{-1} indica flexão dos agrupamentos hidroxila (O-H) da água demonstrando a presença de água adsorvida na fração celulósica avaliada. Todos os espectros de FTIR foram desenvolvidos após o mesmo processo de secagem, porém a água adsorvida nas moléculas de celulose é fortemente ligada, acaba se tornando consideravelmente muito difícil de retirá-la devido a esta interação (MORÁN *et al.*, 2008; OH *et al.*, 2005). As bandas 2919, 85 e 3440,72 cm^{-1} indicam vibrações de estiramento de C-H e O-H respectivamente, característica intrínseca à celulose o que demonstra sua integridade (XU, FEI XIANG *et al.*, 2020). Como não foram

observadas bandas na faixa de 1728 cm^{-1} , caracterizadas por ligações do tipo C=O, não foram averiguados vestígios de hemicelulose na celulose extraída do colmo de bambu *B. vulgaris*. Em decorrência da ausência de largas bandas de absorção entre os comprimentos de onda $1500 - 1600\text{ cm}^{-1}$ relacionadas com as vibrações do anel aromático, não foi detectado a presença de lignina na fração celulósica estudada (MORÁN *et al.*, 2008).

5.3.2. Análise Termogravimétrica (TGA)

Para avaliar a estabilidade térmica da celulose extraída do colmo de bambu *B. vulgaris* variedade *vittata* foi realizada a análise termogravimétrica. A Figura 8 exibe as curvas TG da amostra. Por meio da análise das mesmas observa-se um início de uma pequena perda de massa a temperaturas mais baixas ($< 100\text{ °C}$) correspondendo à possível perda de água absorvida por meio do processo de evaporação (XU, JIA TONG; CHEN, 2019). Verificou-se uma leve perda de massa até 250 °C , correspondendo a região termoestável da amostra. Na faixa de $250-350\text{ °C}$ foi observado um aumento drástico de perda de massa com um decaimento de $80,9\%$ sendo posteriormente seguidas por perdas de massa lentas até 900 °C .

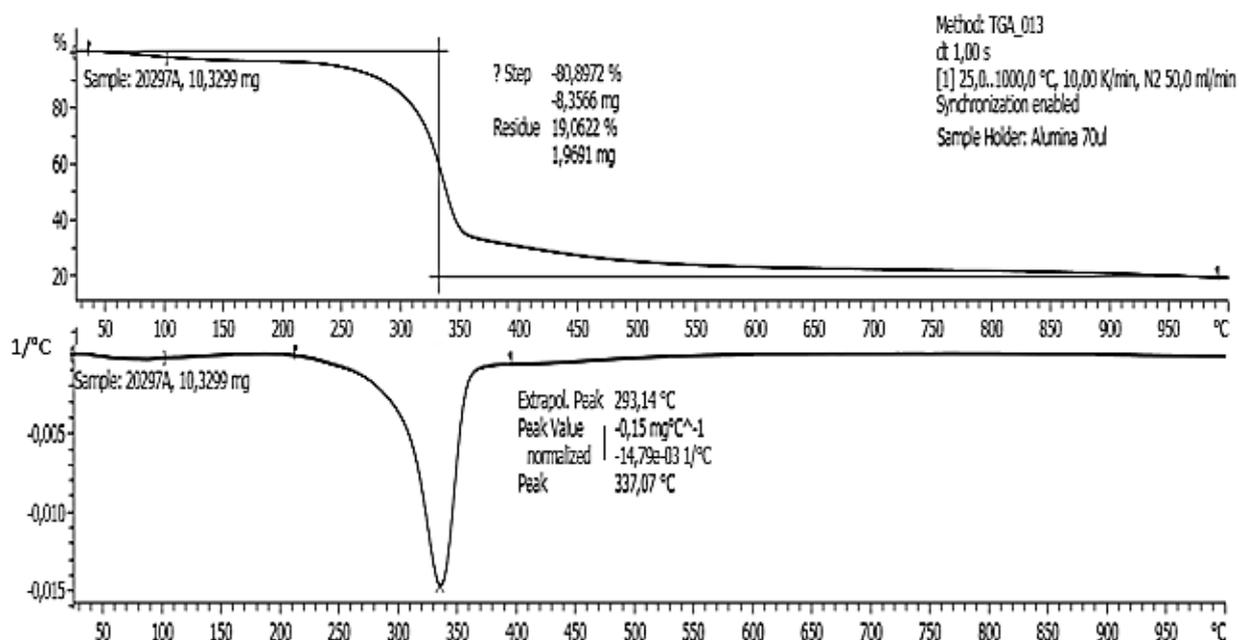


Figura 8. Curvas da Análise Termogravimétrica da Celulose Extraída do Colmo do Bambu *Bambusa vulgaris*.

Foi observado apenas 1 pico de perda de massa na temperatura de $337,07\text{ °C}$, indicando que a celulose extraída do colmo de bambu avaliado encontra-se livre de outros compostos da parede celular vegetal, como a lignina e a hemicelulose, além de outras substâncias que

poderiam estar adsorvidas na fração celulósica mediante o processo de extração (XU, JIA TONG; CHEN, 2019). Não foram observados dados na literatura que avaliaram a estabilidade térmica da celulose extraída por meio da técnica utilizada a partir do colmo de bambu. Mesmo assim os resultados obtidos se assemelham com os dados de Morán *et al.*, (2008) que obtiveram um pico de degradação da celulose de sisal (*Agave sisalana*) na temperatura de 348 °C, que apesar de ser outra matriz vegetal, apresentou-se bem próximo do bambu estudado. Ao caracterizarem a nanocelulose de fibras de oliva Kian *et al.*, 2020 obtiveram um comportamento de decaimento de massa semelhante ao do *Bambusa vulgaris* estudado, além de picos de decaimento médio em torno dos 350 °C que refletem em uma celulose termicamente estável.

5.4. Aproveitamento Biotecnológico da Fração Celulósica do Colmo do Bambu

5.4.1. Produção de Nanocelulose

Para avaliar a produção de nanocelulose por meio da hidrólise enzimática, foram avaliadas tanto a farinha integral do colmo de bambu da espécie *B. vulgaris* variedade *vittata* como a sua própria celulose extraída, conforme os gráficos A e B representados na Figura 9. Ambas as amostras também foram submetidas ao processo de hidrólise enzimática assistida de ultrassom (representada pelas barras pretas), avaliando seus efeitos com relação à hidrólise enzimática convencional (representada pelas barras cinzas).

Ao analisar os resultados obtidos para a farinha integral do bambu não foram encontradas diferenças significativas mediante à ANOVA e o Teste de Tukey a um nível de confiabilidade de 95% entre as amostras que sofreram apenas o tratamento enzimático e as amostras que foram submetidas ao tratamento enzimático assistido de ultrassom ao longo de 72 horas de hidrólise. Em média foi verificado um rendimento médio 11,25% de nanocelulose. Acredita-se que a presença da hemicelulose e da lignina na matriz vegetal confere a recalcitrância da biomassa lignocelulósica, o que impediria e/ou dificultaria o desempenho das enzimas celulolíticas em acessar a fração celulósica. Além disso esta mesma recalcitrância confere maior resistência ao vegetal aos mais diversos tratamentos, sejam eles químicos, físicos ou biológicos, incluindo nestes o ultrassom (BICHOT *et al.*, 2018). Estes resultados sugerem a necessidade de algum pré-tratamento na biomassa lignocelulósica, para remoção gradual de lignina e hemicelulose e/ou intensificar a frequência e o tempo de duração do tratamento assistido com ultrassom.

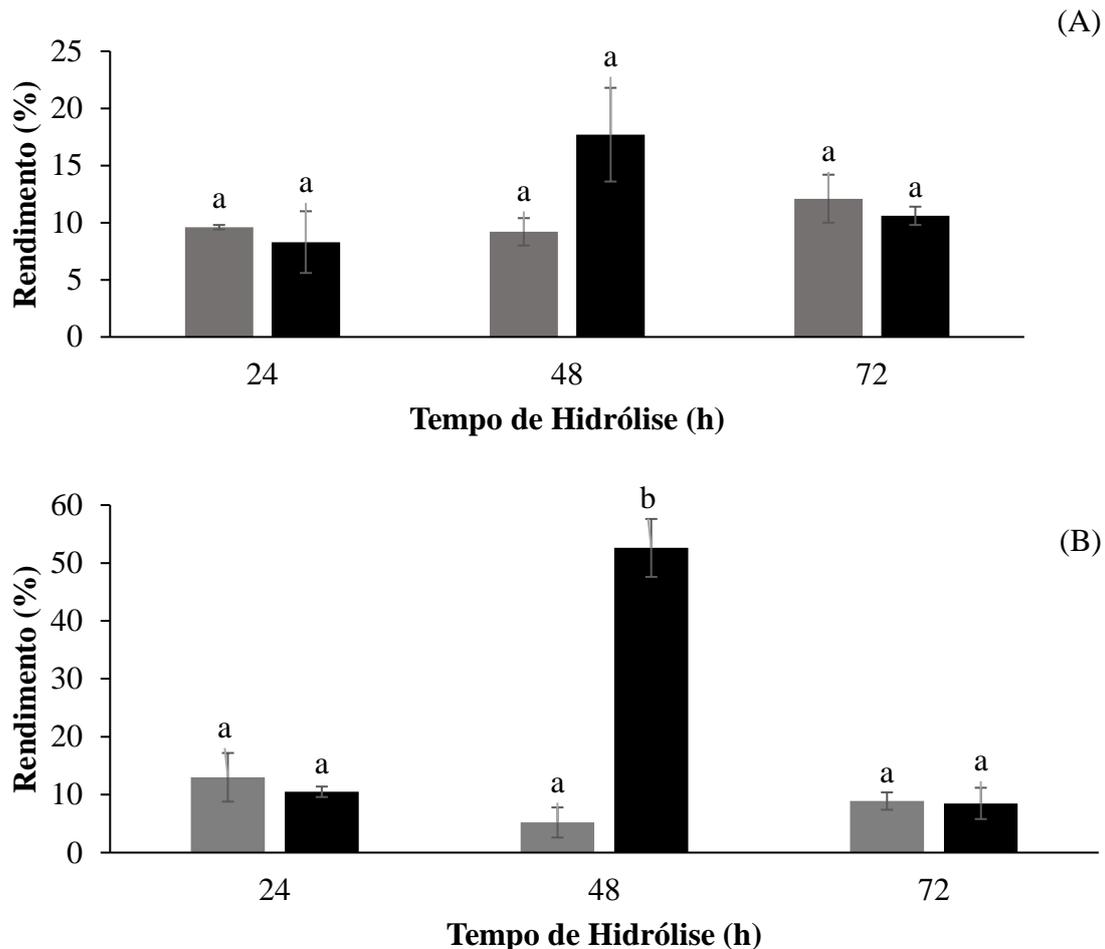


Figura 9. Produção de Nanocelulose a partir da Hidrólise Enzimática da Farinha Do Colmo do Bambu *B. vulgaris* (A) e da Celulose Extraída desta mesma Matriz Vegetal (B). As amostras (■) foram submetidas apenas à hidrólise enzimática enquanto as amostras (■) foram submetidas à hidrólise enzimática assistida de ultrassom. *Médias que não compartilham uma mesma letra são significativamente diferentes, com 95% de confiança.

Por outro lado, ao analisar os resultados obtidos para a celulose extraída do colmo de bambu *B. vulgaris* variedade *vittata*, verificou-se que o ensaio correspondente ao tempo de hidrólise enzimática de 48 h assistida de ultrassom apresentou-se estatisticamente diferente dos demais ensaios, observando um alto rendimento (52,6%) de obtenção de nanocelulose. A aplicação de ondas ultrassônicas gera cavitação, o que leva à formação de radicais livres, turbulência local e microturbulência. A microcirculação líquida pode melhorar o transporte de fluido e reduzir a resistência à transferência de massa em sistemas heterogêneos. A cavitação pode causar mudanças no nível molecular, aumentando a transferência de massa e minimizando o tempo do processo, garantindo a segurança e a qualidade do produto. O mecanismo de cavitação pode acelerar as taxas de reação enzimática ao empregar a energia do ultrassom,

aumentando a movimentação das moléculas líquidas e, conseqüentemente, o acesso do substrato ao sítio ativo da enzima (DALAGNOL *et al.*, 2017; DE CARVALHO SILVELLO; MARTÍNEZ; GOLDBECK, 2019). Diante os resultados obtidos, acredita-se que 24 horas de hidrólise não foram suficientes para que as endoglucanases e as β -glicosidases presentes no coquetel enzimático atuassem na celulose extraída mesmo com o auxílio do ultrassom, enquanto provavelmente o tempo de hidrólise de 72 horas tenha sido excedente, indicando que estes biocatalisadores possam ter clivado a nanocelulose produzida, liberando açúcares no meio, como glicose e celo-oligômeros (BARBOSA *et al.*, 2020).

Ao avaliar a produção de nanocristais de celulose a partir da hidrólise enzimática assistida de ultrassom de celulose microcristalina, Cui *et al.* (2016) obtiveram um rendimento máximo de 22,57% a partir de 120 h de hidrólise enzimática combinado de 10 tratamentos ultrassônicos a cada 60 minutos, enquanto o rendimento máximo de nanocristais de celulose foi de apenas 15,76% na ausência de ultrassom. Ao estudar a produção de nanocelulose a partir da celulose extraída da casca do arroz, por meio da hidrólise ácida convencional para produção de nanocelulose, utilizando ácido sulfúrico a 65%, Rashid e Dutta (2020) obtiveram um rendimento máximo de 41,30%. Wijaya *et al.* (2019) obtiveram um rendimento máximo de 50,67% de nanocristais de celulose a partir da hidrólise ácida com ácido sulfúrico a 54,73% a partir do broto de bambu da espécie *Dendrocalamus asper*. Todos estes trabalhos acabam indicando que o processo executado é eficiente para a produção de nanocelulose a partir da celulose extraída do colmo de bambu, tendo em vista o elevado rendimento obtido, além de ser ecologicamente mais amigável uma vez que a mesma proporcionou rendimentos tão bons quanto o processo convencional que utiliza elevadas concentrações de ácidos.

5.4.2. Produção de Glicose

Para avaliar a produção de glicose por meio da hidrólise enzimática em diferentes tempos da fração celulósica do colmo de bambu *B. vulgaris* foram realizados dois Delineamentos Compostos Centrais Rotacionais (DCCRs), sendo um para a farinha integral do colmo de bambu e outro para a celulose extraída da mesma matriz vegetal, tendo como variáveis independente o pH e a temperatura e como dependente a eficiência de hidrólise. Os resultados obtidos para hidrólise da farinha integral do colmo de bambu encontram-se na Tabela 6.

Tabela 6. Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) da Hidrólise Enzimática da Farinha do Colmo de Bambu *B. vulgaris* em diferentes Tempos de Hidrólise.

Tempos de Hidrólise Enzimática			24 h		48 h		72 h	
Ensaio	Temperatura (°C)	pH	Glicose (g/L)	Eficiência de Hidrólise (%)	Glicose (g/L)	Eficiência de Hidrólise (%)	Glicose (g/L)	Eficiência de Hidrólise (%)
1	40	4	1,66	8,28	1,84	9,21	2,45	12,24
2	40	6	1,51	7,53	1,47	7,37	1,45	7,23
3	60	4	1,49	7,47	1,70	8,48	4,22	21,10
4	60	6	1,20	6,02	1,26	6,31	1,44	7,19
5	35,9	5	1,60	7,98	1,58	7,89	2,59	12,95
6	64,1	5	1,32	6,60	1,48	7,41	1,36	6,82
7	50	3,59	1,75	8,74	2,46	12,28	2,17	10,84
8	50	6,41	1,61	8,03	1,78	8,91	1,69	8,45
9 (C)	50	5	1,70	8,49	2,41	12,06	2,41	12,06
10 (C)	50	5	1,99	9,97	2,35	11,75	2,19	10,95
11 (C)	50	5	2,04	10,21	1,95	9,75	2,09	10,46

Em todos os ensaios do delineamento experimental realizado para a farinha integral do colmo do bambu *B. vulgaris* foram observadas baixas concentrações de glicose e consequentemente baixas eficiências de hidrólise enzimática. Os resultados variaram de 1,20 a 4,22 g/L de glicose obtida com valores de eficiência de 6,02 a 21,10 %. As melhores condições foram encontradas no ensaio 3 (temperatura de 60 °C e pH 4,0) no tempo de 72 horas de hidrólise enzimática, uma vez este proporcionou uma maior concentração de glicose e consequentemente apresentou uma maior eficiência de hidrólise.

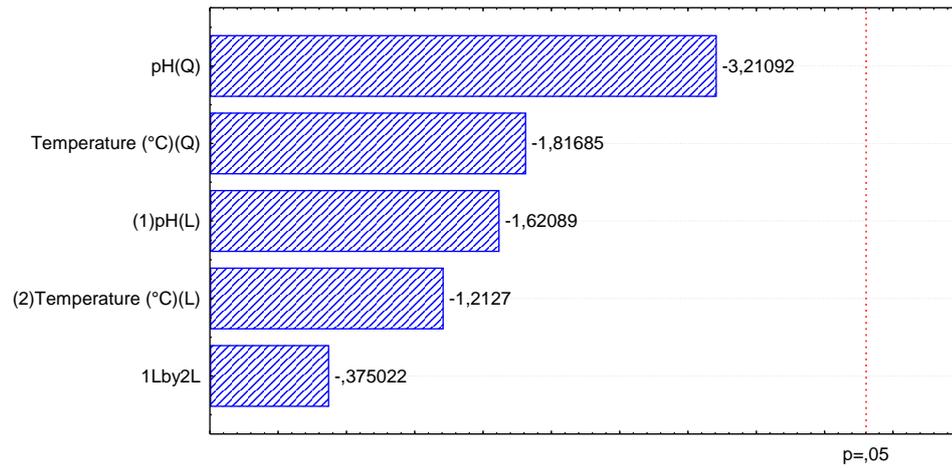
Mediante a análise dos efeitos das variáveis independentes, apresentados pelos gráficos de pareto e pelas tabelas da ANOVA, Figura 10 e Tabelas 7,8 e 9 respectivamente, observa-se que para os tempos de hidrólise de 24 e 48 horas, nenhuma variável estudada apresentou efeito significativo na eficiência de hidrólise da fração celulósica contida na farinha integral do colmo de bambu avaliado, apenas no tempo de 72 horas a temperatura mostrou-se significativa com efeito negativo, indicando que maiores valores desta variável proporcionam menores eficiências de hidrólise enzimática, além disso, a interação entre o pH e a temperatura apresentou um efeito significativo antagônico, indicando que o aumento de uma das variáveis e a diminuição dos valores da outra proporcionam maiores valores da variável resposta.

O aumento da temperatura desse processo enzimático por longos períodos de tempo poderia atuar de forma a desnaturar as β -glicosidases, as celobihidrolases e as endoglucanases que formam o complexo celulolítico do coquetel enzimático aplicado, o que poderia explicar o efeito dessa variável. Temperaturas mais altas que a ótima em processos enzimáticos levam à diminuição drástica da velocidade de reação, desencadeando o desdobramento de grandes segmentos da cadeia polipeptídica, ocasionando a desnaturação (DAMORAN, PARK, FENNEMA, 2010).

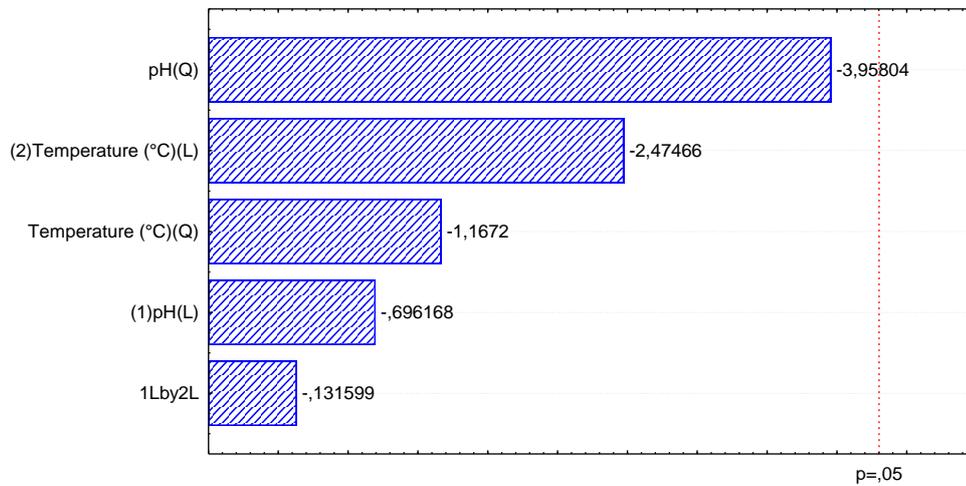
Analisando o processo de maneira geral, acredita-se que a presença da lignina e da hemicelulose na farinha integral do colmo do bambu estudado, confere certa resistência a mesma o que pode impossibilitar o acesso das enzimas celulolíticas na fração celulósica da matriz vegetal, o que pode explicar as baixas concentrações de glicose e eficiências de hidrólise observadas nos dados obtidos (BICHOT *et al.*, 2018). Tratamentos que extraíam a celulose ou removam a lignina e a hemicelulose, poderiam ser realizados de modo a deixar a celulose do material mais biodisponível para ação dos biocatalisadores, liberando assim mais açúcar no meio e consequentemente melhorando a eficiência de hidrólise enzimática (BANOTH *et al.*, 2017).

A Figura 11 apresenta as curvas de nível e as superfícies de resposta dos DCCRs realizados para hidrólise enzimática da farinha integral do colmo do bambu *B. vulgaris* variedade *vittata* nos tempos de 24, 48 e 72 horas. O comportamento dos gráficos nos tempos de 24 e 48 horas de hidrólise são consideravelmente semelhantes, enquanto em 72 horas a curva e a superfície apresentam uma outra tendência para a região ótima. Apesar de apresentar variáveis significativas, gerando um modelo estatístico, o DCCR no tempo de 72 horas de hidrólise apresentou falta de ajuste, conforme a ANOVA da Tabela 9.

24 h



48 h



72 h

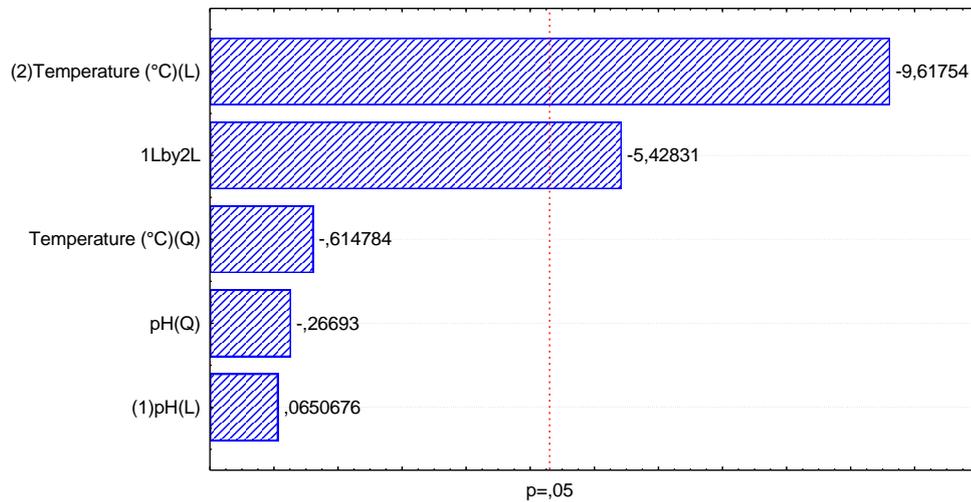


Figura 10. Gráficos de Pareto com os Efeitos Estimados dos DCCRs Realizados para a Farinha Integral do Colmo do Bambu *B. vulgaris*.

Tabela 7. ANOVA dos DCCR Realizado para a Hidrólise Enzimática da Farinha Integral do Colmo de Bambu de 24 horas do *B. vulgaris*. *p: Valores significativos para valores de $p < 0,05$.

Fator	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F	p
(1) pH (L)	2,28839	1	2,288394	2,62729	0,246487
pH (Q)	8,98010	1	8,980100	10,31000	0,084833
(2) T (°C) (L)	1,28093	1	1,280930	1,47063	0,349050
T (°C) (Q)	2,87515	1	2,875153	3,30095	0,210881
1x2	0,12250	1	0,122500	0,14064	0,743679
Falta de Ajuste	0,71534	3	0,238446	0,27376	0,842940
Erro puro	1,74202	2	0,871008		
Erro Residual Total	15,85507	10			
R ²	0,8451				

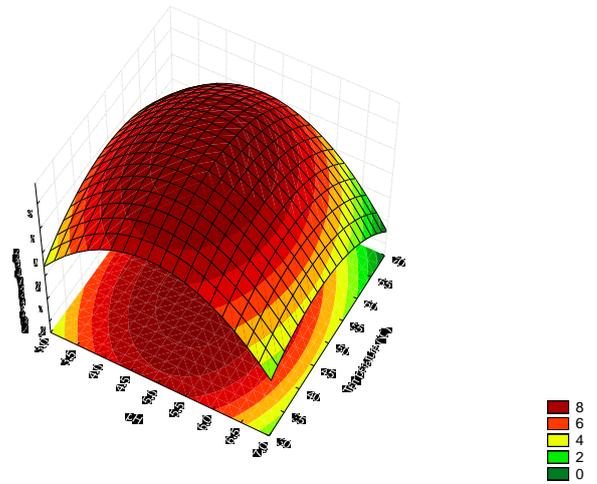
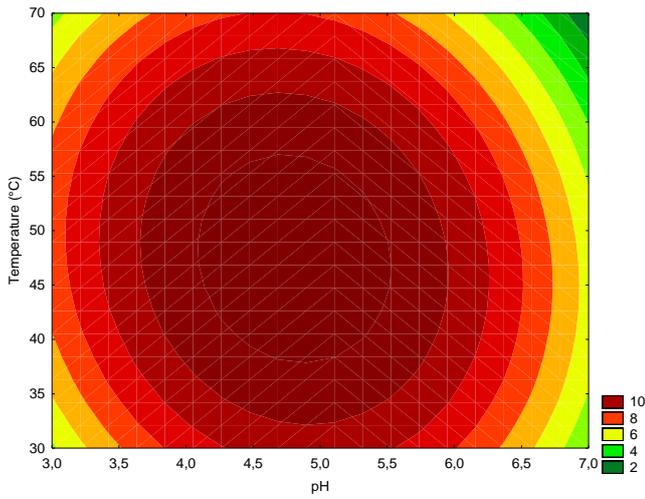
Tabela 8. ANOVA dos DCCR Realizado para a Hidrólise Enzimática da Farinha Integral do Colmo de Bambu de 48 horas do *B. vulgaris*. *p: Valores significativos para valores de $p < 0,05$.

Fator	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F	p
(1) pH (L)	0,76189	1	0,76189	0,48465	0,558347
pH (Q)	24,62759	1	24,62759	15,66608	0,058305
(2) T (°C) (L)	9,62705	1	9,62705	6,12395	0,131775
T (°C) (Q)	2,14165	1	2,14165	1,36234	0,363465
1x2	0,02722	1	0,02722	0,01732	0,907346
Falta de Ajuste	3,50256	3	1,16752	0,74268	0,617460
Erro puro	3,14407	2	1,57203		
Erro Residual Total	41,69040	10			
R ²	0,8457				

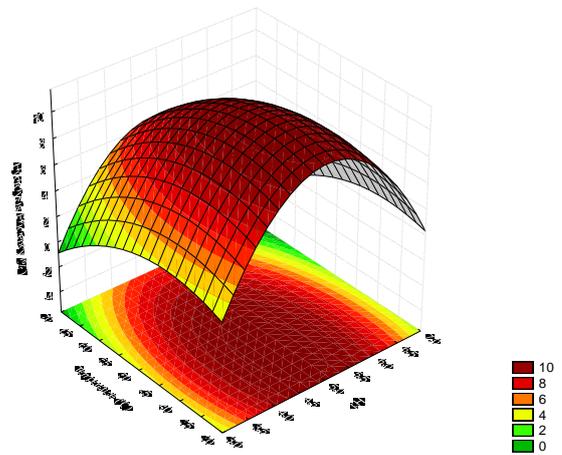
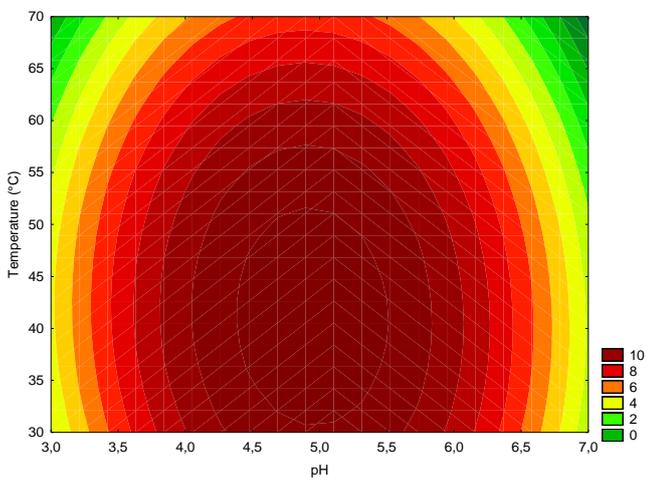
Tabela 9. ANOVA dos DCCR Realizado para a Hidrólise Enzimática da Farinha Integral do Colmo de Bambu de 72 horas do *B. vulgaris*. *p: Valores significativos para valores de $p < 0,05$.

Fator	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F	p
(1) pH (L)	0,0028	1	0,00285	0,00423	0,954039
pH (Q)	0,0479	1	0,04788	0,07125	0,814527
(2) T (°C) (L)	62,1611	1	62,16109	92,49703	0,010639*
T (°C) (Q)	0,2540	1	0,25400	0,37796	0,601324
1x2	19,8025	1	19,80250	29,46654	0,032301*
Falta de Ajuste	77,8815	3	25,96051	38,62979	0,025339*
Erro puro	1,3441	2	0,67203		
Erro Residual Total	161,4515	10			
R ²	0,5093				

24 h



48 h



72 h

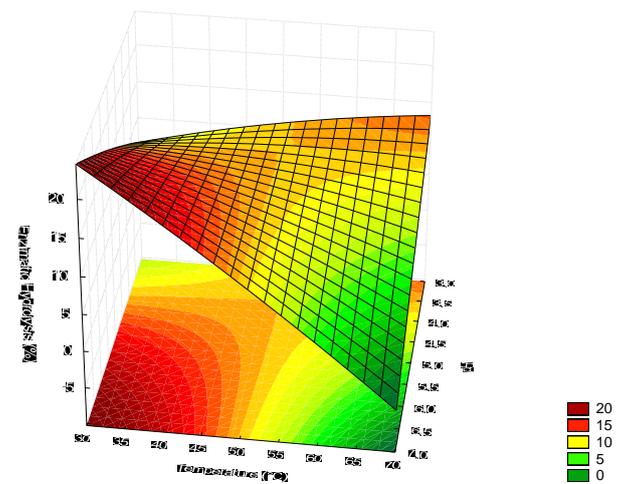
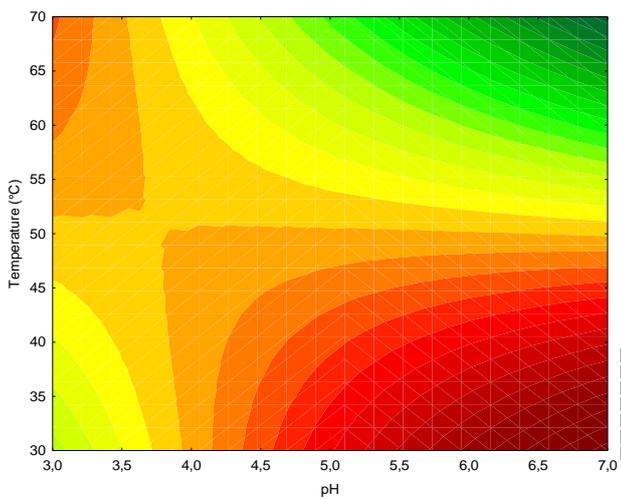


Figura 11. Curvas de Nível e Superfícies de Resposta do DCCR da Hidrólise Enzimática da Farinha do Colmo de Bambu *B. vulgaris*.

Com relação ao Delineamento Composto Central Rotacional realizado para a celulose extraída do colmo de bambu *B. vulgaris* variedade vittata, os resultados obtidos para hidrólise encontram-se na Tabela 10.

Tabela 10. Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) da Hidrólise Enzimática da Celulose Extraída do Colmo de Bambu *B. vulgaris* em diferentes Tempos de Hidrólise.

Tempos de Hidrólise Enzimática			24 h		48 h		72 h	
Ensaio	Temperatura (°C)	pH	Glicose (g/L)	Eficiência de Hidrólise (%)	Glicose (g/L)	Eficiência de Hidrólise (%)	Glicose (g/L)	Eficiência de Hidrólise (%)
1	40	4	9,18	45,86	14,03	70,15	15,7	78,5
2	40	6	7,50	37,50	10,44	52,18	14,24	71,2
3	60	4	3,55	17,76	4,19	20,96	4,22	21,11
4	60	6	1,87	9,35	2,09	10,47	2,31	11,54
5	35,9	5	9,79	48,95	11,17	55,85	19,8	99,00
6	64,1	5	2,09	10,47	2,61	13,07	2,66	13,31
7	50	3,59	8,85	44,26	10,76	53,79	6,53	32,63
8	50	6,41	5,90	29,51	6,69	33,45	7,86	39,3
9 (C)	50	5	8,02	40,10	13,58	67,89	17,10	85,49
10 (C)	50	5	8,65	43,25	14,36	71,80	18,15	90,74
11 (C)	50	5	9,11	45,53	14,75	73,74	17,26	86,32

Diferentemente dos resultados obtidos para a farinha integral do bambu, em todos os ensaios do delineamento experimental realizado para a celulose extraída do colmo do bambu *B. vulgaris* foram observadas consideráveis concentrações de glicose e conseqüentemente altas eficiências de hidrólise enzimática. De maneira geral, conforme o aumento do tempo de hidrólise, observa-se um aumento da produção de glicose em quase todos os ensaios, averiguando maiores valores de eficiência de hidrólise no tempo de 72 horas. Os resultados variaram de 2,09 a 19,8 g/L de glicose obtida com valores de eficiência de 10,47 a 99 %. As melhores condições foram encontradas no ensaio 5 (temperatura de 35,9 °C e pH 5,0) no tempo de 72 horas de hidrólise enzimática, uma vez este proporcionou uma maior concentração de glicose e conseqüentemente apresentou uma maior eficiência de hidrólise.

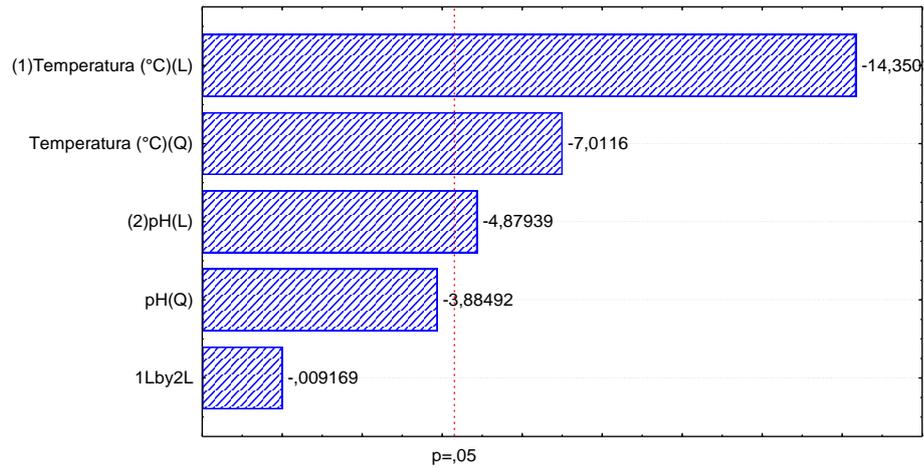
Mediante a análise dos efeitos das variáveis independentes, apresentados pelos gráficos de pareto e pelas tabelas da ANOVA, Figura 12 e Tabelas 11, 12 e 13 respectivamente, observa-se que para todos os tempos de hidrólise as variáveis independentes pH e temperatura foram

significativas sob a eficiência de hidrólise, apresentando um efeito negativo, indicando que maiores valores das mesmas promovem menores valores da variável resposta

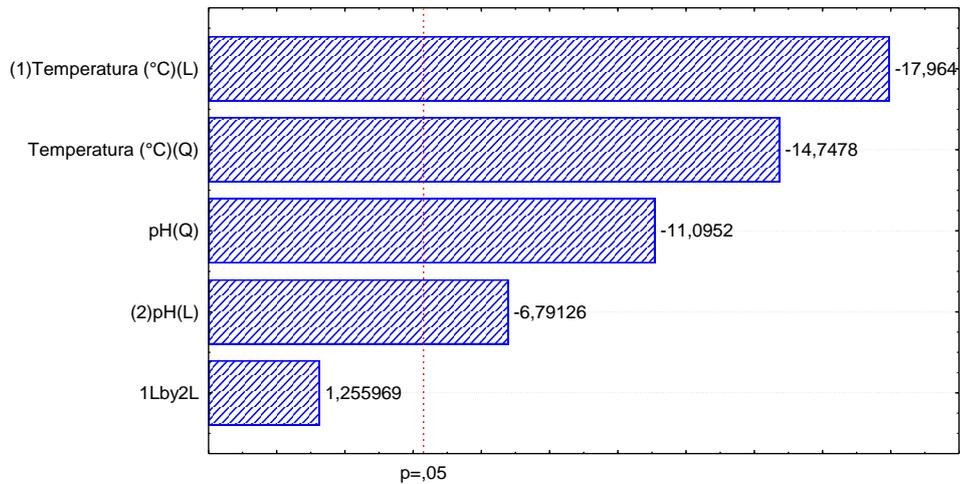
. Não foram observados efeitos de interação sinérgicos ou antagônicos nos tempos e nas condições de hidrólise estudadas. O efeito negativo da temperatura pode ser explicado pelo possível desdobramento das cadeias polipeptídicas do complexo celulolítico do coquetel enzimático causado pela desnaturação térmica, como explicado anteriormente para a farinha de bambu no tempo de 72 horas de hidrólise (LORENCI WOICIECHOWSKI *et al.*, 2020).

Quanto ao efeito negativo do pH sabe-se que baixos valores dessa variável podem proporcionar maiores eficiências de hidrólise, tendo em vista que os ácidos solubilizam principalmente a porção da hemicelulose da biomassa lignocelulósica e também parte da lignina, podendo tornar a fração celulósica mais exposta e acessível, facilitando a ação das enzimas celulolíticas (LORENCI WOICIECHOWSKI *et al.*, 2020).

24 h



48 h



72 h

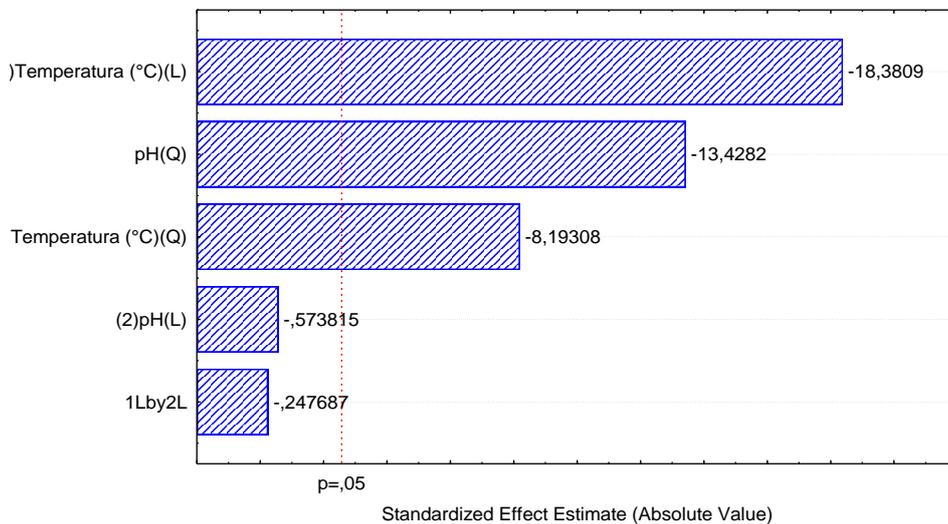


Figura 12. Gráficos de Pareto com os Efeitos Estimados dos DCCRs Realizados para a Hidrólise Enzimática da Celulose Extraída do Colmo do Bambu *B. vulgaris*.

Tabela 11. ANOVA dos DCCR Realizado para a Hidrólise Enzimática de 24 horas da Celulose Extraída Colmo de Bambu do *B. vulgaris*. *p: Valores significativos para valores de $p < 0,05$.

Fator	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F	p
(1) T (°C) (L)	1530,952	1	1530,952	205,9309	0,004821*
T (°C) (Q)	365,489	1	365,489	49,1625	0,019740*
(2) pH (L)	176,999	1	176,999	23,8084	0,039528*
pH (Q)	112,203	1	112,203	15,0926	0,060324
1x2	0,001	1	0,001	0,0001	0,993517
Falta de Ajuste	67,035	3	22,345	3,0056	0,259548
Erro puro	14,869	2	7,434		
Erro Residual Total	2182,380	10			
R ²	0,96247				

Tabela 12. ANOVA dos DCCR Realizado para a Hidrólise Enzimática de 48 horas da Celulose Extraída do Colmo de Bambu do *B. vulgaris*. *p: Valores significativos para valores de $p < 0,05$.

Fator	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F	p
(1) T (°C) (L)	2865,326	1	2865,326	322,7069	0,003084*
T (°C) (Q)	1931,161	1	1931,161	217,4968	0,004566*
(2) pH (L)	409,512	1	409,512	46,1212	0,021001*
pH (Q)	1093,048	1	1093,048	123,1044	0,008026*
1x2	14,006	1	14,006	1,5775	0,335964
Falta de Ajuste	116,157	3	38,719	4,3607	0,192163
Erro puro	17,758	2	8,879		
Erro Residual Total	5797,786	10			
R ²	0,9769				

Tabela 13. ANOVA dos DCCR Realizado para a Hidrólise Enzimática de 72 horas da Celulose do Colmo de Bambu do *B. vulgaris*. *p: Valores significativos para valores de $p < 0,05$.

Fator	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F	p
(1) T (°C) (L)	7094,43	1	7094,427	890,7413	0,001121*
T (°C) (Q)	1409,55	1	1409,546	176,9756	0,005603*
(2) pH (L)	6,91	1	6,914	0,8681	0,449845
pH (Q)	3786,34	1	3786,336	475,3937	0,002097*
1x2	1,29	1	1,288	0,1617	0,726466
Falta de Ajuste	89,06	3	29,687	3,7274	0,218715
Erro puro	15,93	2	7,965		
Erro Residual Total	11407,91	10			
R ²	0,9908				

A Figura 15 apresenta as curvas de nível e as superfícies de resposta dos DCCRs realizados para hidrólise enzimática da celulose extraída do colmo do bambu *B. vulgaris* variedade *vittata* nos tempos de 24, 48 e 72 horas. Os comportamentos dos gráficos ao longo desses intervalos de hidrólise são consideravelmente semelhantes, indicando uma região de ótimo para regiões de menores valores de temperatura e menores valores de pH, conforme os efeitos estimados discutidos anteriormente. A Tabela 14 demonstra as respectivas equações com os modelos estatísticos para cada intervalo de hidrólise enzimática, obtidos a partir dos dados observados.

Tabela 14. Modelos estatísticos da Hidrólise Enzimática da Celulose Extraída do Colmo de Bambu *B. vulgaris* Variedade *vittata*.

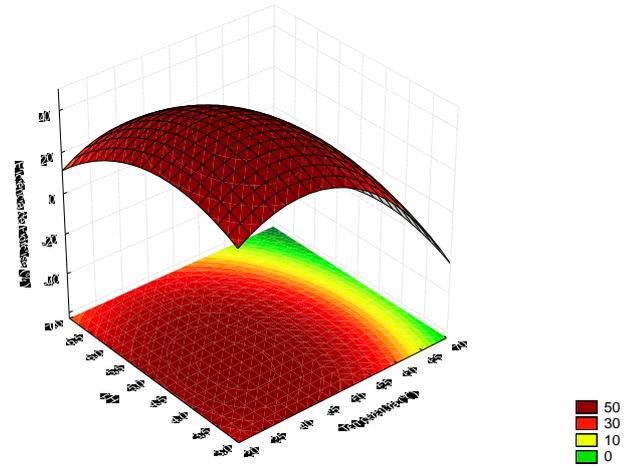
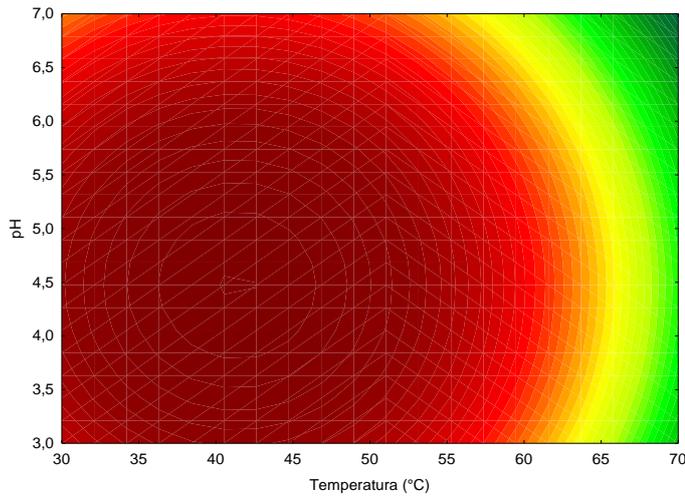
Tempo de Hidrólise (h)	Modelo	R ²
24	$Z = - 177,23 + 6,67.x - 0,08.x^2 + 39,93.y - 4,46.y^2 - 0,00125.x.y$	0,96
48	$Z = - 561,81 + 15,66.x - 0,18.x^2 + 122,61.y - 13,91.y^2 + 0,19.x.y$	0,98
72	$Z = - 815,45 + 13,10.x - 0,16.x^2 + 260,85.y - 25,89.y^2 - 0,06.x.y$	0,99

*Legenda: Z = eficiência de hidrólise (%), x = Temperatura (°C) e y = pH.

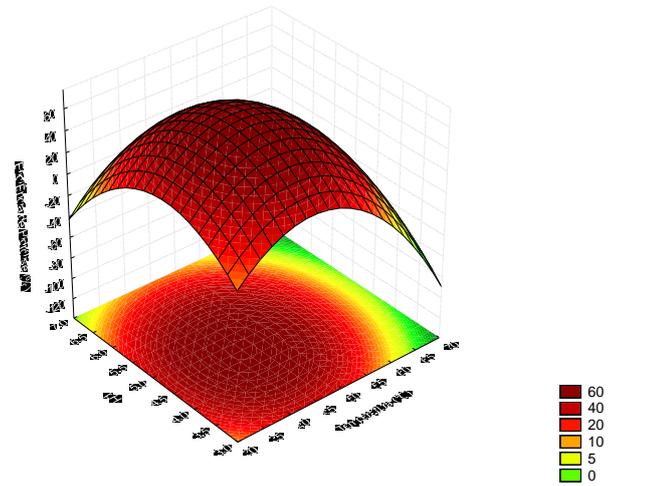
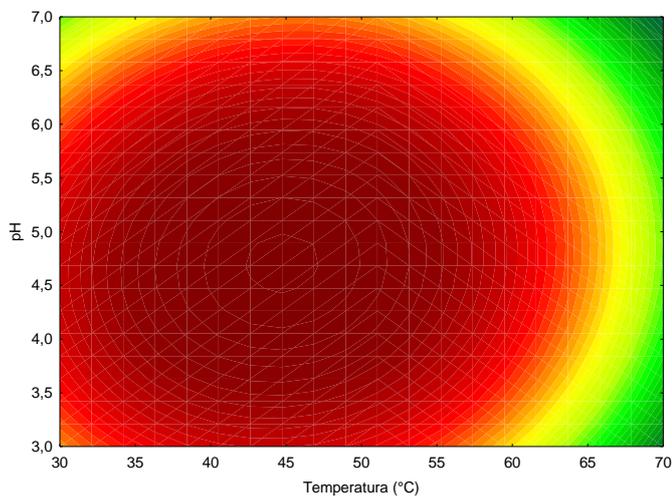
Ao analisar o processo geral como um todo e comparando os resultados obtidos para a celulose extraída do colmo do bambu com os da farinha integral da mesma biomassa lignocelulósica, percebe-se a diferença de panoramas em termos de rendimentos de glicose e eficiência de hidrólise, corroborando com o proposto por Bichot *et al.* (2018) e Banoth *et al.* (2017) que concordam na necessidade um tratamento prévio na biomassa lignocelulósica para que haja uma maior eficiência de catálise enzimática. Além disso, o fato de o melhor ensaio ocorrer em uma menor temperatura, do ponto de vista industrial isso acaba se tornando bastante satisfatório, tendo em vista principalmente a possível economia de energia para um processo como esse em grande escala.

Ao avaliar a produção de glicose a partir do colmo de bambu *Neosino calamus affinis* pré-tratado alcalinamente com NaOH 0,5 % A 170 °C e submetido ao processo de hidrólise enzimática a uma agitação de 150 rpm, 50 °C por 72 horas, Yang *et al.* (2019) obtiveram uma eficiência de hidrólise de 53,3 %, enquanto Huang *et al.* (2019) ao submeter o colmo do bambu de espécie *Phyllostachys heterocycla* pré-tratado com ácido sulfúrico a 1 %, a 160 °C por 60 minutos adicionando ureia posteriormente, obtiveram uma eficiência de hidrólise de 61,4 % por meio da hidrólise enzimática a 50 °C, 150 rpm, durante 48 horas.

24 h



48 h



72 h

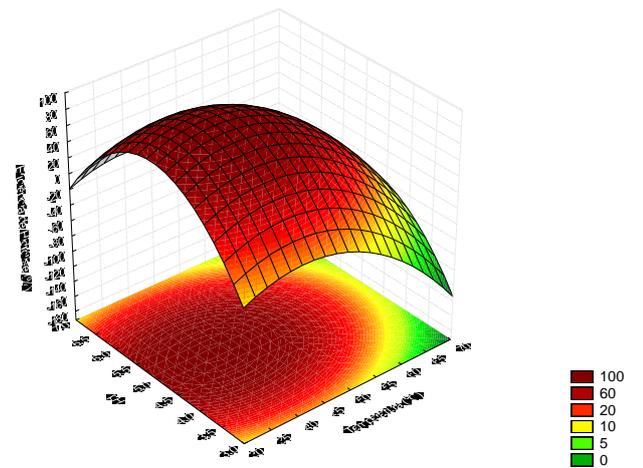
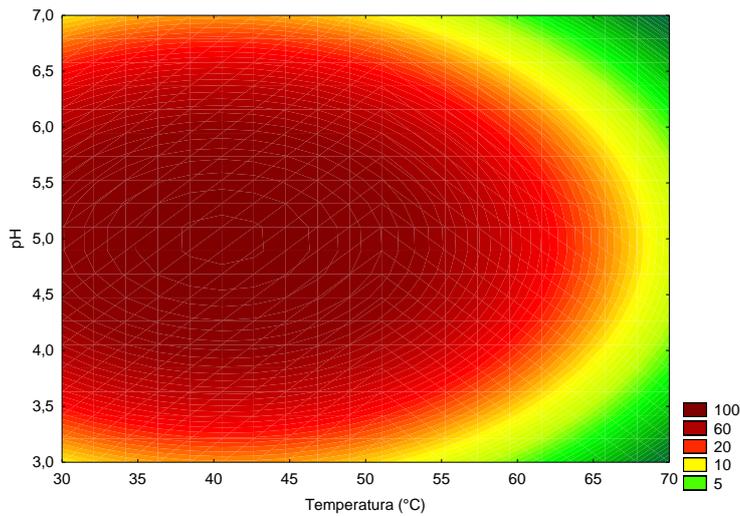
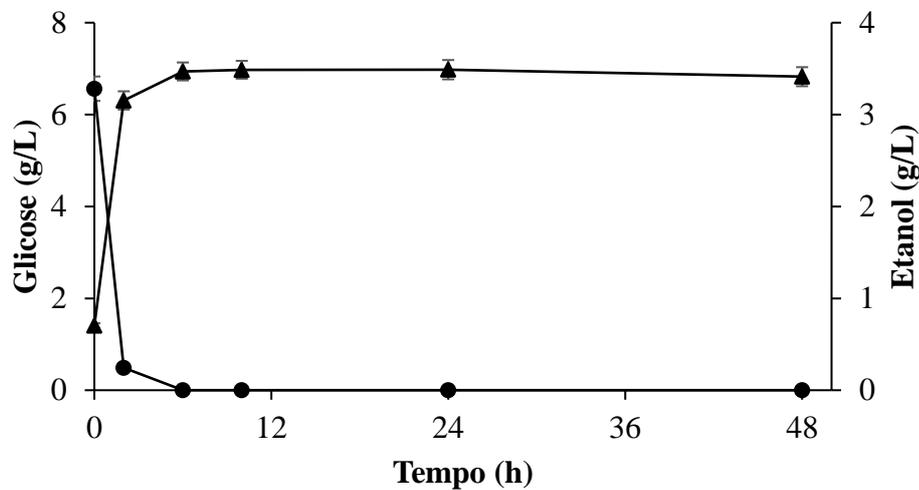


Figura 15. Curvas de Nível e Superfícies de Resposta do DCCR da Hidrólise Enzimática da Celulose Extraída do Colmo de Bambu *B. vulgaris*.

5.4.3. Produção de Bioetanol

Para a avaliação da produção de etanol, foram utilizados o hidrolisado de celulose extraída do colmo de bambu *B. vulgaris* variedade *vittata* para o processo de Hidrólise e Fermentação Separadas (SSH) e a própria celulose extraída da mesma biomassa lignocelulósica para aplicação no processo de Fermentação e Sacarificação Simultânea (SSF) de modo a avaliar os rendimentos e as produtividades de ambos os processos. A Figura 16 apresenta os resultados de consumo de glicose e formação do bioproduto estudado de ambos os processos, sendo (A) para o SSH e o (B) para o SSF. (A)



(B)

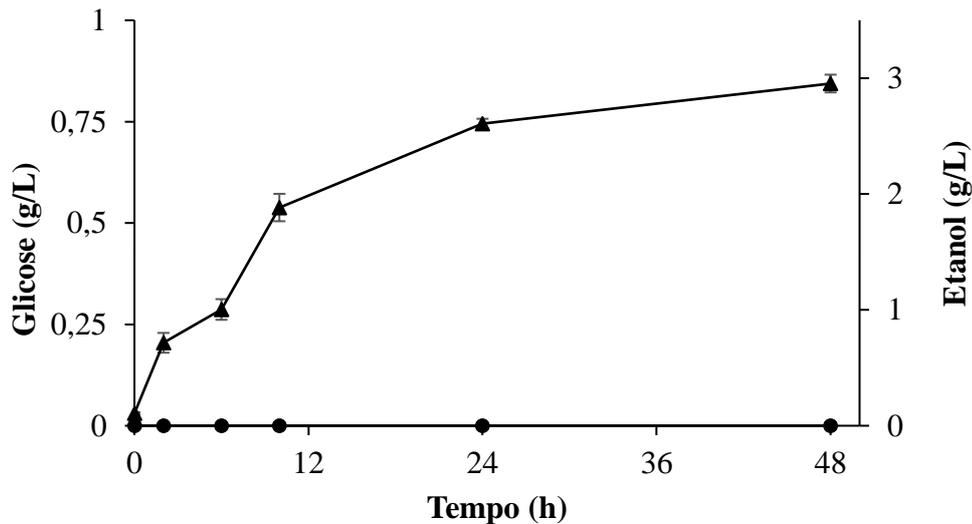


Figura 16. Produção de Bioetanol a partir da Celulose Extraída do Colmo do Bambu *B. vulgaris* por meio da Hidrólise e Fermentação Separadas (A) e por meio da Técnica de Sacarificação e Fermentação Simultânea (B). Legenda: (▲) etanol e (●) glicose.

Ao analisar os dados da Fermentação e Hidrólise Separadas da celulose extraída do colmo de bambu observa-se que nas 6 primeiras horas do processo fermentativo, toda a glicose foi rapidamente consumida e convertida em bioetanol, ao qual atingiu um valor máximo de 3,47 g/L, ao decorrer do processo essa concentração manteve-se praticamente constante, chegando ao final das 48 horas de fermentação com uma concentração de 3,41 g/L de bioetanol. O fato de ter utilizado a estratégia de aplicar uma alta concentração de inóculo (5g/L) permitiu com que todo substrato fosse convertido em etanol, sem desvios para o crescimento celular.

Por outro lado, ao avaliar os dados do processo de Sacarificação e Fermentação Simultânea, observa-se que dentre as condições aplicadas não houve acúmulo de glicose no meio, o que acaba sendo um excelente indicativo de que à medida que a celulose está sendo consumida pelas enzimas do complexo celulolítico presentes no coquetel enzimático e liberando glicose o meio, a *Sacharomyces cerevisiae* PE-02 consome este monossacarídeo, convertendo-o em bioetanol (SHAHSAVARANI *et al.*, 2013). É notável também que ao decorrer deste processo fermentativo, ocorre um aumento gradativo na concentração de etanol, atingindo um valor máximo de 2,95 g/L após 48 horas de processo. Nota-se que o processo de Fermentação e Sacarificação Simultânea apresentou resultados em termos de produção de bioetanol muito próximos ao processo mais convencional (SSH), indicando que este processo pode ser viável para tal aplicação, tendo em vista a redução de vasos reacionais e conseqüentemente de custos, por ocorrer em apenas uma única etapa (JOUZANI; TAHERZADEH, 2015). A Tabela 15 apresenta os parâmetros de rendimentos e de produtividades de ambos os processos fermentativos.

Tabela 15. Parâmetros de rendimento dos processos fermentativos SSH e SSF a partir do colmo do bambu *B. vulgaris* variedade *vittata*.

Parâmetro	SSH	SSF
$Y_{P/S}$ (%)	41,3	-
Y_{P/S^*} (%)	81,0	-
P_p (g/L.h)	0,06	0,06

Os fatores de rendimento ou conversão se substrato em produto do processo SSH observado foi de 41,3, proporcionando um rendimento teórico máximo de 81 %. Devido à indeterminação ocasionada pela glicose, tendo em vista a necessidade do conhecimento das concentrações iniciais e finais do substrato, não foi possível calcular estes parâmetros para o

processo SSF. A produtividade de ambos os processos fermentativos foi de 0,06 g/L.h, entretanto, se levarmos em conta as 72 horas de hidrólise enzimática realizada anteriormente, a produtividade do processo SSH cai para 0,023 g/L.h, indicando que o processo de Sacarificação e Fermentação Simultânea é vantajoso e pode ser consideravelmente interessante, do ponto de vista de aplicações industriais. Provavelmente o aumento da carga de sólidos e do tempo de fermentação pelo método SSF promoveriam ainda melhores resultados, porém para que os dados fossem equiparáveis, manteve-se as condições mais semelhantes possíveis em ambos os processos.

Ao avaliar a produção de bioetanol pelo processo SSH a partir do hidrolisado do colmo de bambu *Neosino calamus affinis* pré-tratado com NaOH 5% a 170 °C e empregando a *Saccharomyces cerevisiae* Yang *et al.* (2019) obtiveram uma concentração de etanol de 4,8 g/L. Já Huang *et al.*, 2020 utilizaram colmos de bambu pre-tratados alcalinamente com peróxido de hidrônio obtiveram um rendimento teórico máximo de aproximadamente 76,98 % por meio do processo SSF, utilizando uma carga de sólidos de 30% após 72 horas de fermentação. Jiang, Fei e Li (2016) avaliaram a produção de bioetanol a partir do colmo do *Bambusa blumeana* pré-tratado pelo processo hidrotérmico e alcalino seguido de uma hidrólise enzimática de 48 horas e da fermentação propriamente dita, utilizando a *Saccharomyces cerevisiae* durante 24 horas e obtiveram um rendimento teórico máximo de 89,7 %.

5.5. Extração da Xilana

O colmo de bambu da espécie *Dendrocalamus latiflorus* selecionado foi submetido ao processo de extração de xilana, sendo avaliado a carga de biomassa lignocelulósica que deve ser aplicada de modo a obter maiores rendimento e eficiência de extração. Os resultados desta análise estão apresentados na Figura 17, por meio da análise dos mesmos percebe-se que o aumento da concentração de biomassa lignocelulósica até a faixa de 100 g/L não proporcionou aumento significativo nos rendimentos e eficiências de extração, indicando que uma baixa carga de sólidos seria ideal para tal aplicação. O maior rendimento de extração verificado foi de 23,58 %, proporcionando uma eficiência de extração de 92,7 %. O rendimento de extração indica a relação entre a quantidade de xilana obtida e a massa de amostra de farinha integral do colmo de bambu submetida ao processo. Já a eficiência de extração indica a relação entre a massa de xilana obtida e a massa de xilana presente na amostra da farinha integral do colmo de bambu. Foi verificado na concentração de 120 g/L de colmo de bambu uma diminuição significativa

dos valores de rendimento e eficiência de extração de xilana. Apesar das metodologias sugerirem altas cargas de biomassas para serem submetidas ao processo de extração da xilana, para essa espécie de bambu estudada, isso não era possível devido à sua baixa massa específica, gerando assim grandes volumes de biomassa, promovendo uma dificuldade para que a solução extratora percorra toda a biomassa por inteira e extraia eficientemente a xilana (AKPINAR *et al.*, 2010).

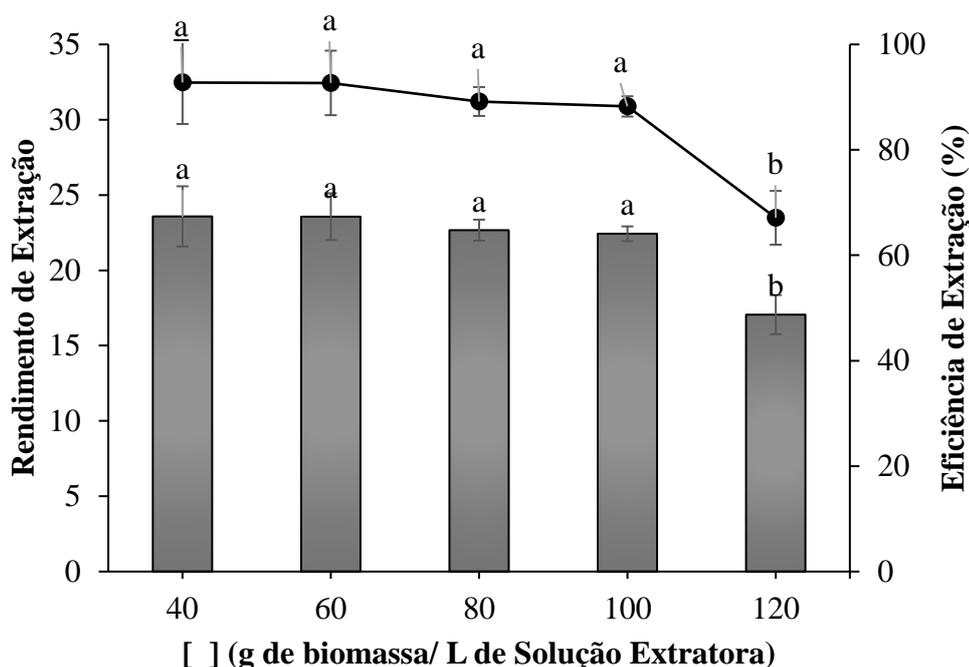


Figura 17. Extração da Xilana do Colmo do Bambu *D. latiflorus* a partir de Diferentes Cargas de Biomassa Lignocelulósica. *Médias que não compartilham uma mesma letra são significativamente diferentes, com 95% de confiança.

Ao avaliar o pré-tratamento alcalino utilizando NaOH a 5 % do colmo de bambu *Phyllostachys edulis*, Yuan *et al.*, (2020) obtiveram um conteúdo de xilana de 19,9 %. Akpinar *et al.*, (2010) ao estudar a extração alcalina da xilana a partir do caule de tabaco, os mesmos obtiveram um rendimento de 21,9 % de xilana utilizando uma carga de biomassa lignocelulósica de aproximadamente 120 g/L. Huang *et al.*, (2015) extraíram a xilana de resíduos de bambu da espécie e obtiveram uma eficiência de extração máxima de 72,67 % a partir de uma menor carga de sólidos (2%) submetida ao processo. Todas essas informações indicam que a metodologia utilizada neste trabalho mostra-se eficiente para a extração da xilana a partir do *Dendrocalamus latiflorus*, utilizando uma carga de biomassa de 40 g/L, podendo

ser aplicada nos mais diversos bioprocessos para obtenção de prebióticos, como os XOS, xilose, entre outros.

5.6. Caracterização da Xilana Extraída do Colmo de Bambu

5.6.1. Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A Figura 18 apresenta as bandas que formam o Espectro de Absorção de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) da xilana extraída do colmo de bambu *D. latiflorus*. A partir desta análise foi possível caracterizar a estrutura química deste componente majoritário da fração hemicelulósica da matriz vegetal estudada por meio da identificação dos principais grupos funcionais presentes na amostra (XU, FEI XIANG et al., 2020).

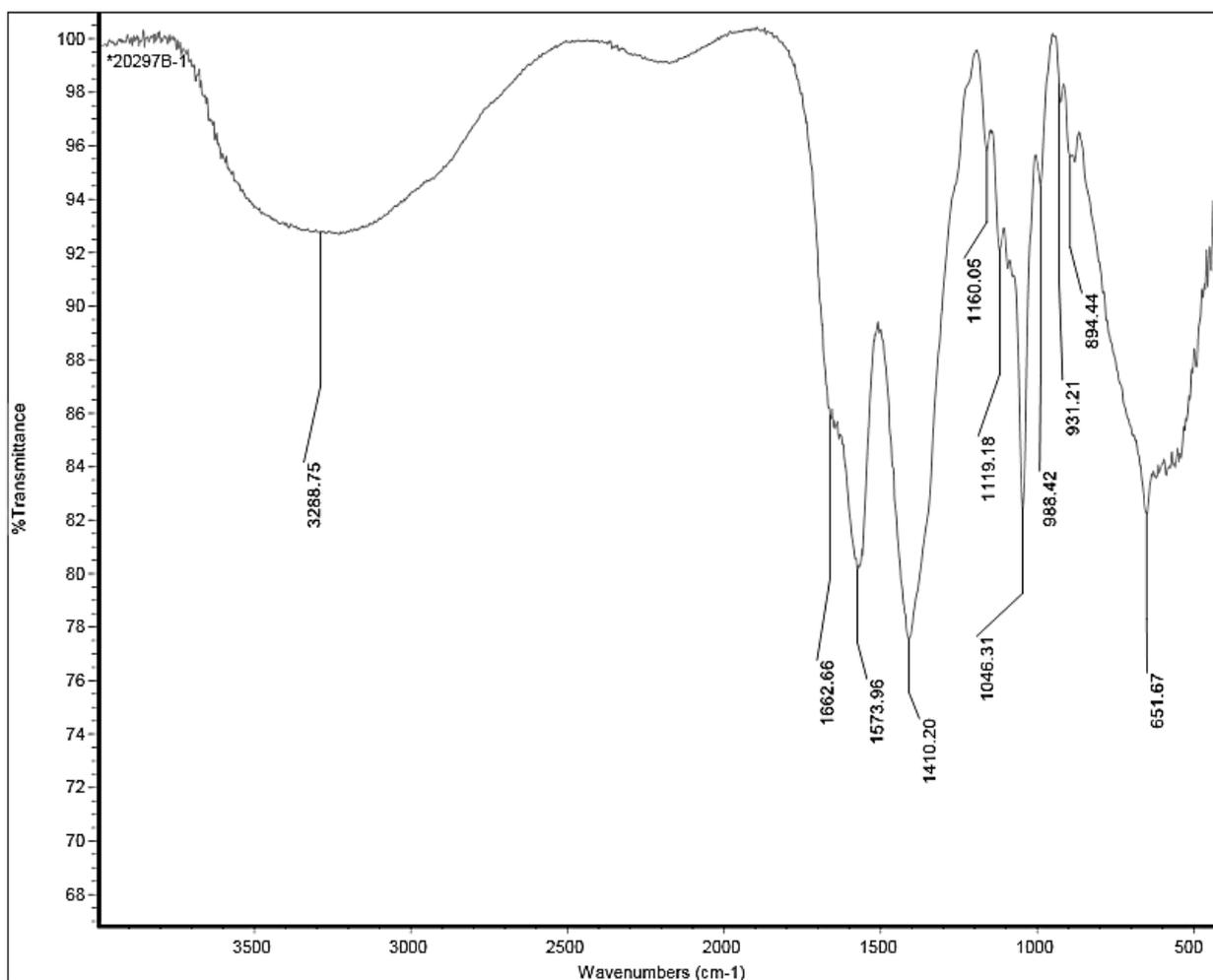


Figura 18. Espectro de Absorção no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) da Xilana Extraída do Colmo do Bambu *D. latiflorus*.

Mediante a análise das bandas espectrais obtidas observa-se a formação de uma região de menores comprimentos de onda ao qual se concentra-se bandas bem definidas e de intensidades consideráveis na faixa de 500 – 1700 cm^{-1} e uma região de maior comprimento de onda, entre 2500 – 3500 cm^{-1} que apresenta apenas uma banda larga de baixa intensidade. Foi identificada uma banda em 651,67 cm^{-1} indicando deformação angular das ligações tipo O-H. A banda de 1046,31 cm^{-1} de grande intensidade indica a integridade da xilana. A banda centrada nesse comprimento de onda refere-se às vibrações do anel glicosídico, deformação angular das ligações C-O-H, deformações axiais das ligações C-O e C-O-O, indicando que a xilana analisada apresenta um perfil semelhante das arabinoxilanas com baixo grau de substituição (SILVA, SIMONE S. *et al.*, 1998; WANG *et al.*, 2019).

A banda em 1410,20 cm^{-1} é atribuída à flexão das ligações H-C-H e C-H ou O-H característica da fração hemicelulósica. A banda de absorção observada no comprimento de onda 1573,96 cm^{-1} está relacionada com a deformação axial das ligações do tipo C=C de anéis aromáticos, indicando a presença da lignina residual na xilana extraída (WANG *et al.*, 2019). A banda em torno de 1660 cm^{-1} uma deformação angular nas ligações do tipo O-H, demonstrando a presença de água adsorvida na fração de xilana estudada mediante as interações físicas e químicas existentes que acabam se tornando resistentes para sua remoção (MORÁN *et al.*, 2008). A banda larga e de baixa intensidade observada no comprimento de onda 3288,75 cm^{-1} está relacionada com vibrações de estiramento nas ligações de tipo O-H, indicando a presença de resíduos de celulose presentes na xilana extraída do colmo de bambu *Dendrocalamus latiflorus* (WANG *et al.*, 2019).

5.6.2. Análise Termogravimétrica (TGA)

Para avaliar a estabilidade térmica da xilana extraída do colmo de bambu *Dendrocalamus latiflorus* foi realizada a análise termogravimétrica. A Figura 8 exibe as curvas TG da amostra. Por meio da análise das mesmas observa-se 4 principais regiões de perdas de massa. A primeira ocorreu na faixa de temperatura entre 30 - 120 °C correspondendo à possível perda de água absorvida por meio do processo de evaporação (XU, JIA TONG; CHEN, 2019). A segunda faixa foi observada na faixa entre 225 – 325 °C e a terceira faixa 400 – 500 °C. Ambas as faixas indicam a degradação térmica dos açúcares presentes na fração da xilana, por meio da quebra das ligações glicosídicas. Essa segunda faixa, indica a degradação da própria xilana demonstrando que a mesma é consideravelmente estável até a temperatura de 200 °C. A terceira faixa indica provavelmente a degradação térmica da celulose residual aderida à xilana

extraída. A quarta região de perda de massa, foi observada na faixa de temperatura 750 – 900 °C indicando a degradação térmica da lignina residual da amostra (ou dos seus resíduos) e ou produtos estáveis da pirólise dos açúcares presentes na amostra (SILVA, SIMONE S. *et al.*, 1998; WANG *et al.*, 2019).

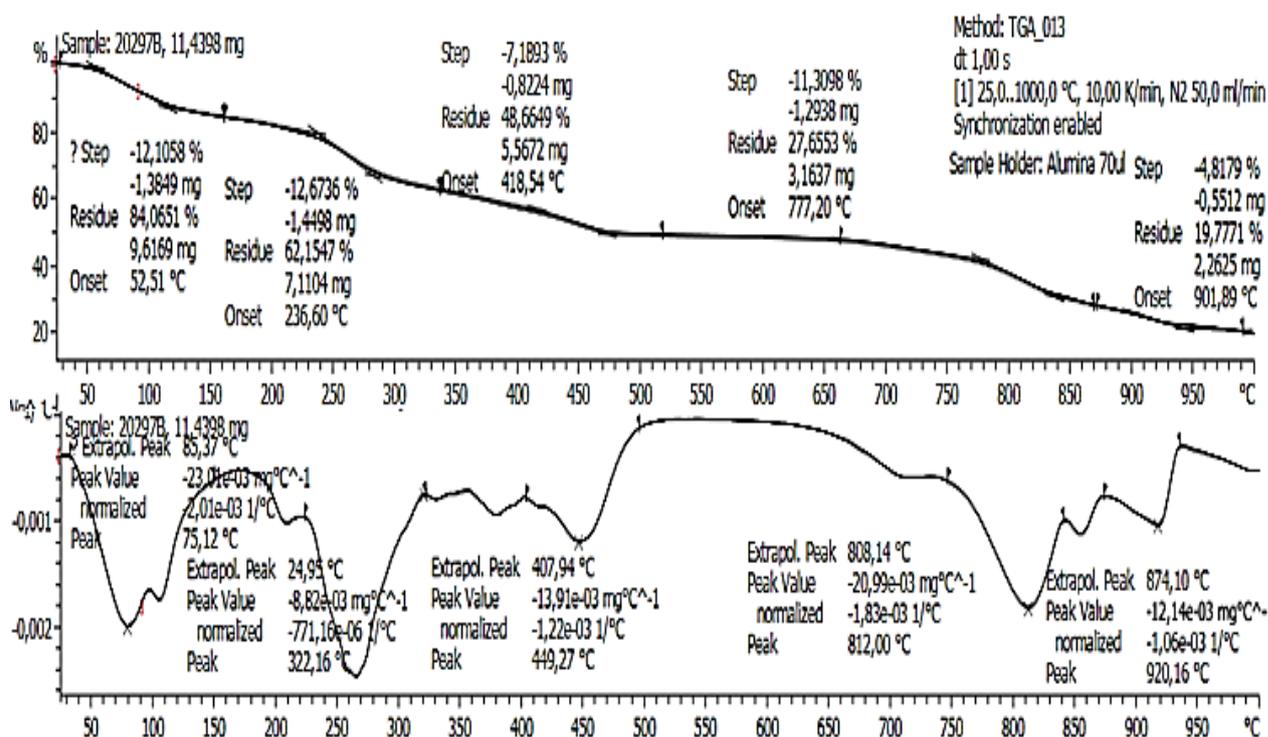


Figura 19. Curvas da Análise Termogravimétrica da Xilana Extraída do Colmo do Bambu *D. latiflorus*.

Na literatura não foram encontrados dados de caracterização térmica da xilana extraída do colmo do bambu utilizando a mesma técnica abordada neste trabalho. Mesmo assim, os resultados obtidos corroboram com os resultados das análises de Wang, *et al.* (2019) que ao avaliarem a caracterização de hemiceluloses obtidas do bambu de espécie *Phyllostachys edulis* obtiveram um perfil de degradação e estabilidade térmica semelhante ao encontrado neste presente trabalho, observando também uma xilana estável até temperaturas próximas de 200°C.

5.7. Aproveitamento Biotecnológico da Xilana Extraída do Colmo do Bambu

5.7.1. Produção de Xilo-Oligossacarídeos (XOS)

Para avaliar a produção dos XOS por meio de diferentes tempos de hidrólise enzimática da xilana extraída da fração hemicelulósica do colmo de bambu *Dendrocalamus latiflorus*. Foi realizado um Delineamento Composto Central Rotacional (DCCRs), composto por ensaios mais 3 pontos centrais tendo como variáveis independente o pH e a temperatura e como dependente a concentração de XOS totais. Para a execução do planejamento foi utilizada uma concentração enzimática de 7,5 mg de proteína/g de xilana, tendo que vista que a partir da curva de saturação enzimática apresentada na Figura 20, esse valor de carga enzimática corresponde à menor concentração que fornece a maior atividade de endoxilanasase. Os resultados obtidos para hidrólise enzimática da xilana extraída do colmo de bambu nos tempos de 24, 48 e 72 horas encontram-se nas Tabelas 16, 17 e 18 respectivamente.

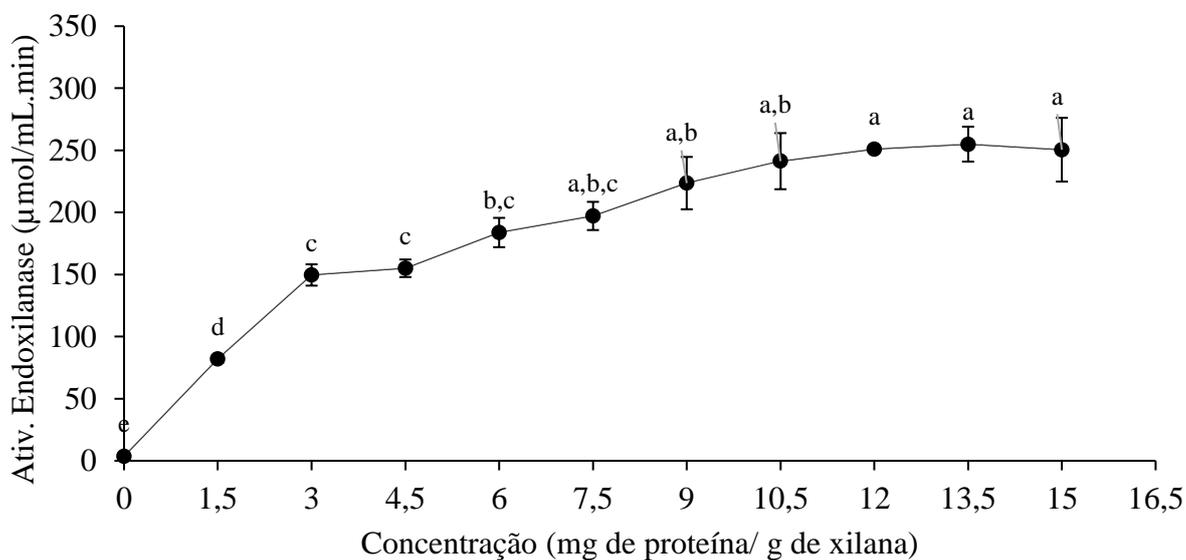


Figura 20. Curva de Saturação enzimática da endoxilanasase presente no coquetel enzimático Shearzyme da Novozymes ®.

Tabela 16. Resultados do Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) da Hidrólise Enzimática da Xilana Extraída do Colmo de Bambu *D. latiflorus* após 24 h.

Ensaio	Temperatura (°C)	pH	X2 (g/L)	X3 (g/L)	X4 (g/L)	X5 (g/L)	X6 (g/L)	XOS totais (g/L)
1	40	4	1,50	0,82	0,15	0,00	0,00	2,47
2	40	6	0,28	0,00	0,17	0,00	0,00	0,45
3	60	4	1,31	0,88	0,16	0,00	0,00	2,36
4	60	6	0,28	0,00	0,18	0,00	0,00	0,46
5	35,9	5	1,53	0,84	0,15	0,00	0,00	2,52
6	64,1	5	0,92	0,74	0,31	0,00	0,00	1,97
7	50	3,59	2,21	0,26	0,14	0,00	0,00	2,61
8	50	6,41	0,28	0,00	0,17	0,00	0,00	0,45
9 (C)	50	5	3,74	1,02	0,00	0,00	0,00	4,76
10 (C)	50	5	3,63	1,10	0,14	0,00	0,00	4,87
11 (C)	50	5	3,53	1,25	0,17	0,00	0,00	4,95

Tabela 17. Resultados do Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) da Hidrólise Enzimática da Xilana Extraída do Colmo de Bambu *D. latiflorus* após 48 h.

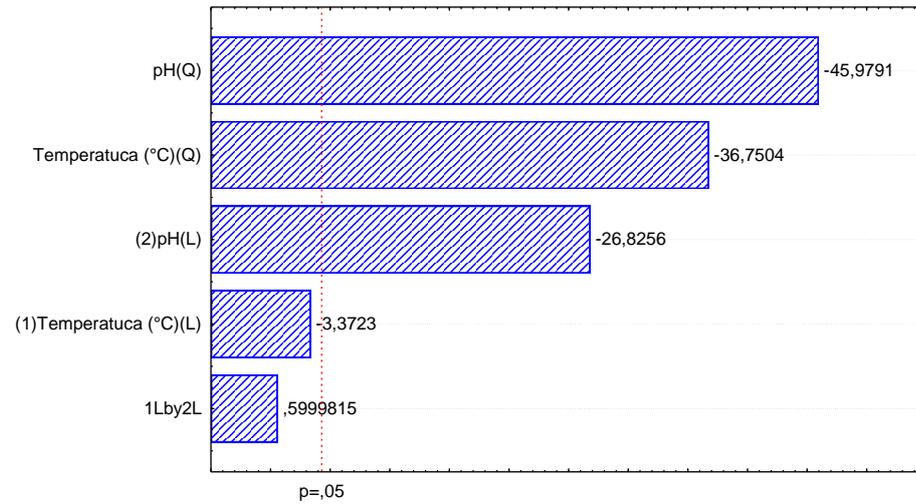
Ensaio	Temperatura (°C)	pH	X2 (g/L)	X3 (g/L)	X4 (g/L)	X5 (g/L)	X6 (g/L)	XOS totais (g/L)
1	40	4	2,35	0,73	0,15	0,00	0,00	3,23
2	40	6	0,28	0,00	0,16	0,00	0,00	0,44
3	60	4	0,75	0,00	0,14	0,00	0,51	1,41
4	60	6	0,32	0,25	0,15	0,00	0,00	0,72
5	35,9	5	1,29	0,68	0,15	0,00	0,00	2,12
6	64,1	5	0,68	0,55	0,28	0,00	0,00	1,51
7	50	3,59	3,95	0,30	0,00	0,03	0,00	4,28
8	50	6,41	0,00	0,00	0,15	0,00	0,00	0,15
9 (C)	50	5	3,02	1,25	0,17	0,00	0,00	4,45
10 (C)	50	5	2,49	1,31	0,25	0,00	0,00	4,06
11 (C)	50	5	3,61	0,65	0,06	0,00	0,00	4,31

Tabela 18. Resultados do Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) da Hidrólise Enzimática da Xilana Extraída do Colmo de Bambu *D. latiflorus* após 72 h.

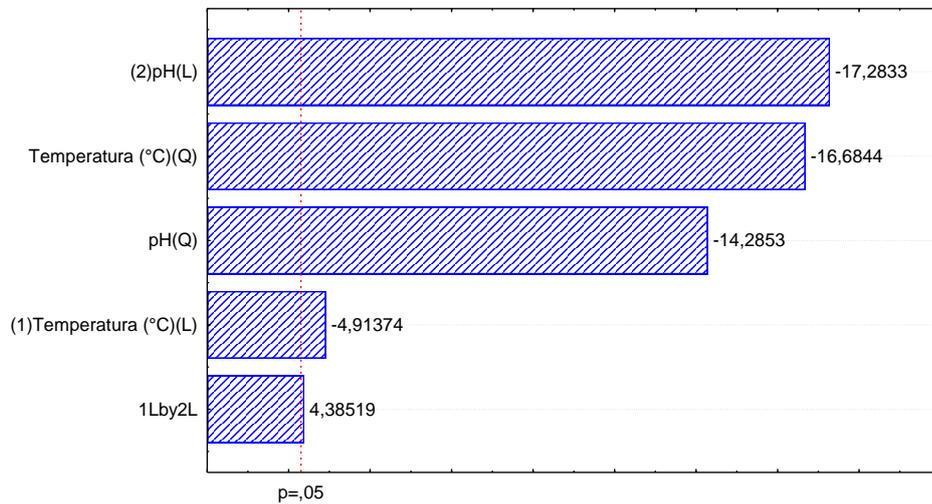
Ensaio	Temperatura (°C)	pH	X2 (g/L)	X3 (g/L)	X4 (g/L)	X5 (g/L)	X6 (g/L)	XOS totais (g/L)
1	40	4	3,18	0,47	0,00	0,03	0,00	3,68
2	40	6	0,28	0,00	0,00	0,00	0,00	0,28
3	60	4	0,43	0,42	0,34	0,08	0,00	1,26
4	60	6	0,00	0,00	0,19	0,00	0,00	0,19
5	35,9	5	1,78	0,86	0,14	0,00	0,00	2,78
6	64,1	5	0,65	0,54	0,30	0,00	0,00	1,49
7	50	3,59	3,26	0,27	0,00	0,07	0,00	3,59
8	50	6,41	0,00	0,00	0,15	0,00	0,00	0,15
9 (C)	50	5	1,81	1,02	0,24	0,01	0,00	3,08
10 (C)	50	5	2,23	1,28	0,28	0,04	0,00	3,84
11 (C)	50	5	3,62	0,32	0,00	0,03	0,00	3,97

De maneira geral, os resultados obtidos para produção de XOS a partir da xilana extraída do colmo do bambu foram consideravelmente relevantes, tendo em vista outros trabalhos que utilizam o bambu ou até mesmo outras biomassas lignocelulósicas, em condições otimizadas chegam a obter menores concentrações de xilo-oligômeros. Os resultados variaram de 0,28 a 4,95 g/L de XOS, sendo observados principalmente os xilo-oligossacarídeos de cadeias curtas, xilobiose (X2) e xilotriose (X3) e xilotetose (X4) de cadeia intermediária. Foram poucos os ensaios que se observou xilo-oligômeros cadeias longas, como xilopentose (X5) e xilohexose (X6). As melhores condições foram encontradas no ensaio 11, referente ao ponto central (temperatura de 50 °C e pH 5,0) no tempo de 24 horas de hidrólise enzimática, uma vez este proporcionou uma maior concentração de xilo-oligossacarídeos. Sob o ponto de vista industrial, processos em que a melhores condições ocorrem em menores tempos refletem e impactam positivamente em sua viabilidade, tende em vista maiores valores de produtividade que estes podem oferecer. Mediante a análise dos efeitos das variáveis independentes, apresentados pelos gráficos de pareto e pelas tabelas da ANOVA, Figura 21 e Tabelas 19, 20 e 21 respectivamente.

24 h



48 h



72 h

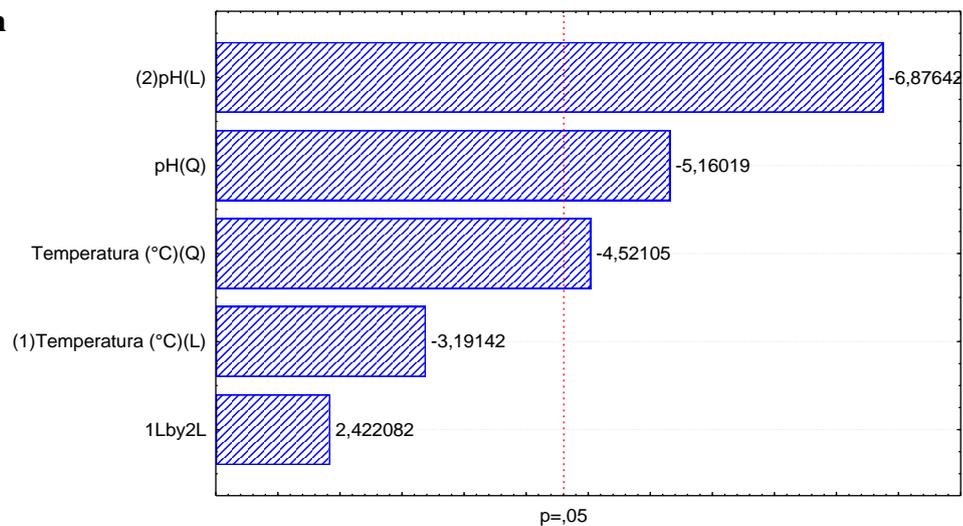


Figura 21. Gráficos de Pareto com os Efeitos Estimados dos DCCRs Realizados para a Hidrólise Enzimática da Xilana Extraída do Colmo do Bambu *D. latiflorus*.

Tabela 19. ANOVA dos DCCR Realizado para a Hidrólise Enzimática de 24 horas da Xilana Extraída do Colmo de Bambu do *D. latiflorus*. *p: Valores significativos para valores de $p < 0,05$.

Fator	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F	p
(1) T (°C) (L)	0,09591	1	0,09591	11,372	0,077808
T (°C) (Q)	11,39074	1	11,39074	1350,593	0,000740*
(2) pH (L)	6,06912	1	6,06912	719,612	0,001387*
pH (Q)	17,82987	1	17,82987	2114,077	0,000473*
1x2	0,00304	1	0,00304	0,360	0,609443
Falta de Ajuste	0,55977	3	0,18659	22,124	0,043555*
Erro puro	0,01687	2	0,00843		
Erro Residual Total	29,55554	10			
R²	0.98049				

Tabela 20. ANOVA dos DCCR Realizado para a Hidrólise Enzimática de 48 horas da Xilana Extraída do Colmo de Bambu do *D. latiflorus*. *p: Valores significativos para valores de $p < 0,05$.

Fator	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F	p
(1) T (°C) (L)	0,94904	1	0,94904	24,1448	0,039009*
T (°C) (Q)	10,94164	1	10,94164	278,3685	0,003573*
(2) pH (L)	11,74129	1	11,74129	298,7124	0,003331*
pH (Q)	8,02129	1	8,02129	204,0712	0,004865*
1x2	0,75586	1	0,75586	19,2299	0,048268*
Falta de Ajuste	1,49806	3	0,49935	12,7041	0,073850
Erro puro	0,07861	2	0,03931		
Erro Residual Total	29,74887	10			
R²	0,9470				

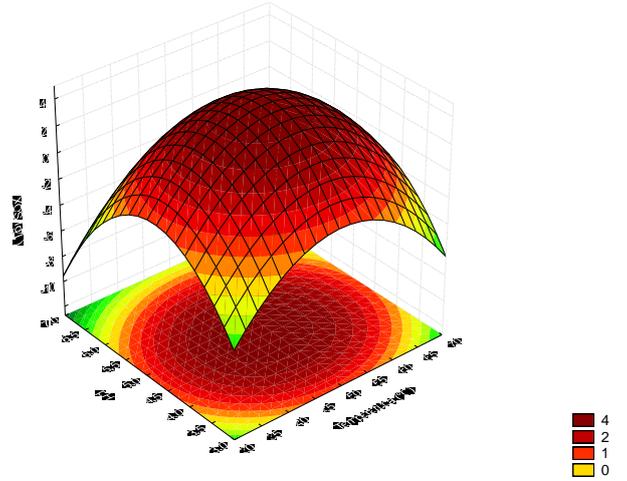
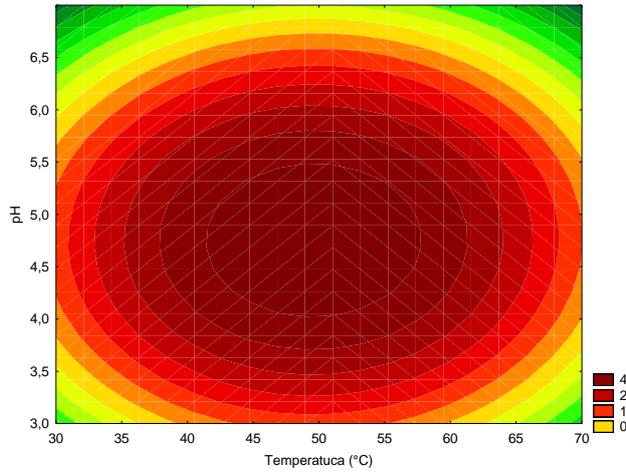
Tabela 21. ANOVA dos DCCR Realizado para a Hidrólise Enzimática de 72 horas da Xilana Extraída do Colmo de Bambu do *D. latiflorus*. *p: Valores significativos para valores de $p < 0,05$.

Fator	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F	p
(3) T (°C) (L)	2,34667	1	2,34667	10,18519	0,085743
T (°C) (Q)	4,70936	1	4,70936	20,43991	0,045603*
(4) pH (L)	10,89451	1	10,89451	47,28514	0,020500*
pH (Q)	6,13500	1	6,13500	26,62758	0,035564*
1x2	1,35164	1	1,35164	5,86648	0,136428
Falta de Ajuste	0,92962	3	0,30987	1,34494	0,453312
Erro puro	0,46080	2	0,23040		
Erro Residual Total	24,39328	10			
R²	0,9430				

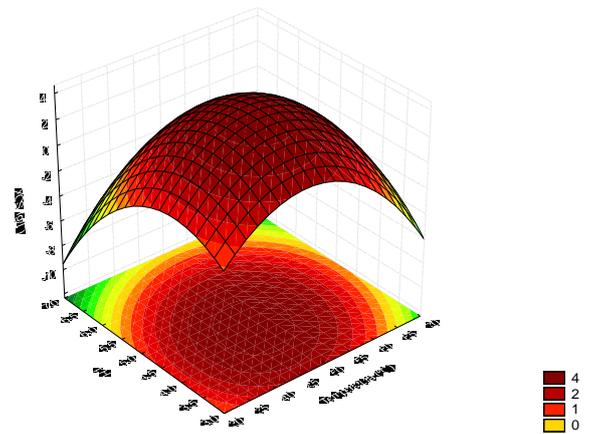
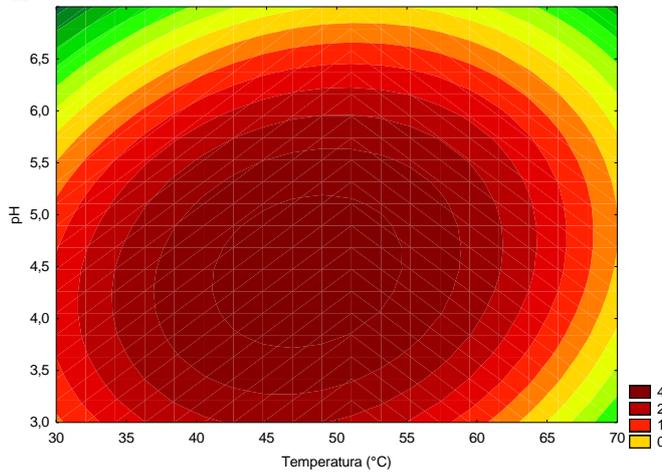
Observa-se que para todos os tempos de hidrólise as variáveis independentes pH e temperatura foram significativas sob a variável resposta, obtenção de XOS, apresentando efeitos negativos, indicando que maiores valores das mesmas promovem menores valores na produção dos prebióticos. Foi observado apenas um efeito de interação significativo no tempo de 48 horas de hidrólise, demonstrando um efeito antagônico, indicando assim que o aumento dos valores de uma determinada variável e a diminuição dos valores da outra promovem maiores valores da variável resposta. Acredita-se que o efeito negativo causado pelo aumento da temperatura pode ser explicado pelo desencadeamento da desnaturação térmica da endoxilânase presente no coquetel enzimático. As temperaturas mais altas que a faixa ótima em processos enzimáticos podem causar um desdobramento nas estruturas terciária e quaternária da proteína, impactando drasticamente na diminuição da velocidade de reação de hidrólise da xilana. (DAMORAN, PARK, FENNEMA, 2010). Com relação ao efeito negativo do pH, acredita-se que o aumento dos valores dessa variável pode ocasionar na precipitação da xilana, o que a deixa em um estado mais agregado e organizado, o que dificultaria a ação das enzimas para degradação e liberação dos XOS, além disso valores de pHs mais baixos promovem a ruptura das ligações covalentes o que a depender das condições de hidrólise, podem ser favoráveis na degradação da xilana e liberação dos xilo-oligossacarídeos (GOWDHAMAN; PONNUSAMI, 2015). De maneira geral, na maioria dos ensaios ao longo do tempo de hidrólise é observado uma diminuição da concentração de XOS, o que poderia indicar que as próprias enzimas do coquetel aplicado poderiam estar clivando os mesmos e liberando xilose como produto final (GOLDBECK *et al.*, 2014).

A Figura 23 apresenta as curvas de nível e as superfícies de resposta dos DCCRs realizados para hidrólise enzimática da xilana extraída do colmo do bambu *D. latiflorus* nos tempos de 24, 48 e 72 horas. Os comportamentos dos gráficos ao longo desses intervalos de hidrólise são consideravelmente semelhantes, indicando uma região de ótimo para regiões de menores valores de temperatura e menores valores de pH, conforme os efeitos estimados discutidos anteriormente. A Tabela 11 demonstra as respectivas equações com os modelos estatísticos para cada intervalo de hidrólise enzimática, obtidos a partir dos dados observados. Apenas no tempo de hidrólise de 24 horas a falta de ajuste mostrou-se significativa.

24 h



48 h



72 h

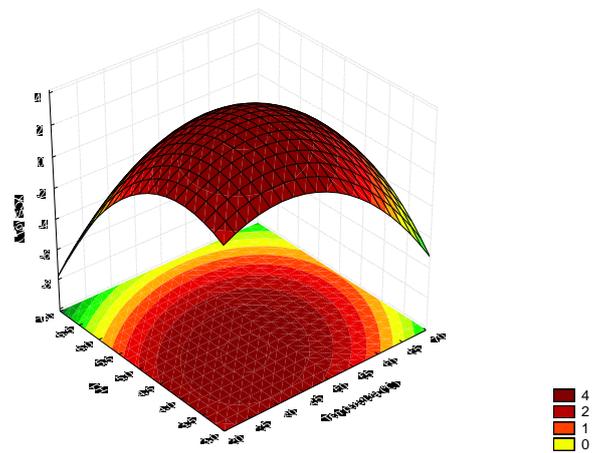
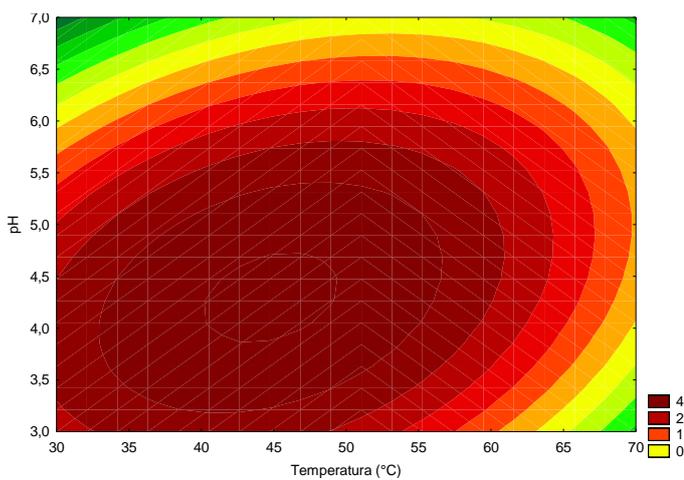


Figura 23. Curvas de Nível e Superfícies de Resposta do DCCR da Hidrólise Enzimática da Xilana Extraída do Colmo de Bambu *D. latiflorus*.

Tabela 11. Modelos estatísticos da Hidrólise Enzimática da Xilana Extraída do Colmo de Bambu *D. latiflorus*.

Tempo de Hidrólise (h)	Modelo	R ²
24	$Z = - 69,48 + 1,39.x - 0,01.x^2 + 16,76.y - 1,78.y^2 + 0,03.x.y$	0,98
48	$Z = - 41,67 + 1,10.x - 0,01.x^2 + 8,53.y - 1,19.y^2 + 0,04.x.y$	0,95
72	$Z = - 22,18 + 0,574.x - 0,01.x^2 + 6,35.y - 1,04.y^2 + 0,06.x.y$	0,94

*Legenda: Z = eficiência de hidrólise (%), x = Temperatura (°C) e y = pH.

Na literatura não são reportados trabalhos que abordam a produção de xilo-oligossacarídeos utilizando os parâmetros e os níveis avaliados por meio do DCCR, além de não constar estudos que abordem a produção desses prebióticos a partir da xilana extraída de colmos de bambu pela metodologia executada neste trabalho. Ao avaliar a produção de XOS por meio do tratamento de autohidrólise do colmo de bambu de espécie *Dendrocalamus giganteus* Munro, Xiao *et al.*, (2013) obtiveram no seu melhor ensaio um conteúdo total de aproximadamente 4,75 g/L de XOS com cadeias de 2 a 6 unidades monoméricas. Ávila *et al.*, (2020) ao estudar a produção de xilo-oligômeros a partir do bagaço de cana de açúcar pré-tratado com ácido diluído e com líquido iônico e submetido ao processo de hidrólise enzimática, eles obtiveram uma produção máxima de XOS de 0,251 g/L para o primeiro pré-tratamento e 0,229 g/L para o segundo.

6. CONCLUSÃO GERAL

Em suma, mediante os resultados obtidos pode-se constatar que o colmo de bambu é uma matéria-prima lignocelulósica de grande importância e potencialidade para as aplicações no âmbito dos processos biotecnológicos que envolvem a biorrefinaria, tendo em vista sua composição rica em celulose e hemicelulose o que permitiu as extrações eficientes das frações celulósicas (41,87%) e xilana (23,58%), a partir das espécies *Bambusa vulgaris vittata* e *Dendrocalamus latiflorus*, respectivamente, por meio de técnicas não convencionais para este material vegetal, aplicando-as para a obtenção dos mais diversos bioprodutos, como nanocelulose, glicose, bioetanol e xilo-oligossacarídeos, por meio da hidrólise enzimática, que desempenhou um papel fundamental para a produção desses biocompostos.

O rendimento máximo de nanocelulose de 52,6 % a partir da celulose extraída do colmo do bambu da espécie *Bambusa vulgaris vittata*, demonstrou a importância da realização de pré-tratamento na matriz vegetal de modo a facilitar os processos posteriores, além disso a técnica de hidrólise enzimática assistida de ultrassom, mostrou-se super eficaz no tempo de 48 horas, permitindo obter este considerável rendimento através de um processo muito mais ecológico que os métodos convencionais que utilizam elevadas concentrações de ácidos.

Com relação à glicose, também foi observado os melhores resultados de eficiência de hidrólise (99%) e consequentemente maiores concentrações de glicose (19,8 g/L) na hidrólise enzimática da celulose extraída do colmo do bambu, observando mais uma vez a recalcitrância da matriz vegetal quando usada integralmente isenta de algum pré-tratamento.

Já com relação à produção de bioetanol, foi possível obtê-lo por meio de processos distintos, partindo da celulose extraída do colmo do bambu. O processo SSH apresentou maiores rendimentos de bioetanol, 3,41 g/L enquanto o SSF 2,95 g/L, entretanto se levarmos em conta à produtividade, o processo simultâneo pode ser ainda mais vantajoso, para isso mais estudos utilizando leveduras engenheiradas termotolerantes, maiores temperaturas e maiores cargas de biomassa podem proporcionar concentrações ainda maiores desse biocombustível.

Com relação aos XOS obtidos por meio da hidrólise enzimática de xilana extraída do colmo do bambu *Dendrocalamus latiflorus*, observou-se uma concentração máxima (4,95 g/L) desses prebióticos no tempo de 24 horas de hidrólise, demonstrando a eficiência do tratamento de extração assim como as condições empregadas para a hidrólise foram consideravelmente interessantes, atingindo resultados melhores em um menor tempo de hidrólise, quando comparado com outros bioprocessos. Todos esses resultados enaltecem o potencial biotecnológico do colmo do bambu demonstrando seu grande potencial para tais aplicações.

7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Caracterizar a nanocelulose obtida, quanto à sua cristalinidade, FTIR, TGA e microscopia eletrônica de varredura de modo poder classificá-la em nanocristalina ou nanofibrilada e avaliar possíveis aplicações;
- Avaliar pré-tratamentos para a hidrolisar a fração celulósica contida na farinha integral do colmo de bambu, comparando com o processo de hidrólise enzimática;
- Validar os modelos estatísticos referentes à produção de glicose, mediante à hidrólise enzimática da celulose extraída do colmo de bambu;
- Avaliar a produção de bioetanol por meio do processo de Sacarificação e Fermentação Simultânea utilizando leveduras engenheiradas que tolerem maiores temperaturas, além de avaliar maiores cargas de celulose extraída do colmo de bambu, além de avaliar maiores tempos de fermentação;
- Avaliar a produção de celo-oligossacarídeos a partir da hidrólise enzimática da fração celulósica do colmo de bambu;
- Validar os modelos estatísticos referentes a produção dos xilo-oligossacarídeos, mediante à hidrólise enzimática da xilana extraída do colmo de bambu;
- Avaliar os efeitos prebióticos e antioxidantes dos XOS obtidos;
- Estudar a produção desses biocompostos a partir de ensaios com as mesmas enzimas imobilizadas e recuperadas sucessivamente;
- Realizar estudos de viabilidade econômica dos processos avaliados.

REFERÊNCIAS

ABREU, Flávia O.M.S. *et al.* Chitosan/cashew gum nanogels for essential oil encapsulation. *Carbohydrate Polymers*, v. 89, n. 4, p. 1277–1282, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.04.048>>.

AKPINAR, Ozlem *et al.* Comparison of acid and enzymatic hydrolysis of tobacco stalk xylan for preparation of xylooligosaccharides. *LWT - Food Science and Technology*, v. 43, n. 1, p. 119–125, 2010.

ALTHURI, Avanthi; GUJJALA, Lohit Kumar Srinivas; BANERJEE, Rintu. Partially consolidated bioprocessing of mixed lignocellulosic feedstocks for ethanol production. *Bioresource Technology*, v. 245, p. 530–539, dez. 2017.

AMORIM, Cláudia *et al.* *Dados Econômicos, From lignocellulosic residues to market, Production and commercial potential of xylooligosaccharides.pdf*. [S.l: s.n.], 2019

ANTONIO BIZZO, Waldir *et al.* The generation of residual biomass during the production of bio-ethanol from sugarcane, its characterization and its use in energy production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 29, p. 589–603, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2013.08.056>>.

BAI, Yuan-yuan; XIAO, Ling-ping; SUN, Run-cang. ScienceDirect Microwave-assisted conversion of biomass derived hemicelluloses into xylo-oligosaccharides by novel sulfonated bamboo-based catalysts. *Biomass and Bioenergy*, v. 75, p. 245–253, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biombioe.2015.02.023>>.

BANOTH, Chandrasekhar *et al.* *Improved physicochemical pretreatment and enzymatic hydrolysis of rice straw for bioethanol production by yeast fermentation. 3 Biotech*. [S.l: s.n.], 2017

BARBOSA, Fernando Cesar *et al.* Optimization of cello-oligosaccharides production by enzymatic hydrolysis of hydrothermally pretreated sugarcane straw using cellulolytic and oxidative enzymes. *Biomass and Bioenergy*, v. 141, n. July, 2020.

BASSO, L. C.; DE AMORIM, H. V.; DE OLIVEIRA, A. J.; LOPES, M. L. Yeast selection for fuel ethanol production in Brazil. *FEMS Yeast Research*, [s. l.], v. 8, n. 7, p. 1155–1163, 2008.

BHATIA, Shashi Kant *et al.* Recent developments in pretreatment technologies on

lignocellulosic biomass: Effect of key parameters, technological improvements, and challenges. *Bioresource Technology*, v. 300, n. October 2019, p. 122724, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122724>>.

BICHOT, Aurélie *et al.* *Understanding biomass recalcitrance in grasses for their efficient utilization as biorefinery feedstock*. [S.l: s.n.], 2018. v. 17.

BRANDT, Agnieszka *et al.* Deconstruction of lignocellulosic biomass with ionic liquids. *Green Chemistry*, v. 15, n. 3, p. 550–583, 2013.

BRITO, Flávia Maria Silva *et al.* Caracterização do Anátmica e Física do Bambu Gigante (*Dendrocalamus giganteus* Munro). *Floresta e Ambiente*, v. 22, n. 4, p. 559–566, 2015. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2179-80872015000400559&nrm=iso>.

CUI, Shaoning *et al.* Green preparation and characterization of size-controlled nanocrystalline cellulose via ultrasonic-assisted enzymatic hydrolysis. *Industrial Crops and Products*, v. 83, p. 346–352, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.01.019>>.

CZAIKOSKI, Aline; DA CUNHA, Rosiane Lopes; MENEGALLI, Florencia Cecilia. Rheological behavior of cellulose nanofibers from cassava peel obtained by combination of chemical and physical processes. *Carbohydrate Polymers*, v. 248, n. May, p. 116744, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116744>>.

DA SILVA, Ayla Sant'Ana *et al.* Major improvement in the rate and yield of enzymatic saccharification of sugarcane bagasse via pretreatment with the ionic liquid 1-ethyl-3-methylimidazolium acetate ([Emim][Ac]). *Bioresource technology*, v. 102, n. 22, p. 10505-10509, 2011.

DA SILVA, Marcos F *et al.* Bamboo as an eco-friendly material for food and biotechnology industries. *Current Opinion in Food Science*, v. 33, p. 124–130, 2020.

DALAGNOL, Luíza M.G. *et al.* Improvement of pectinase, xylanase and cellulase activities by ultrasound: Effects on enzymes and substrates, kinetics and thermodynamic parameters. *Process Biochemistry*, v. 61, n. July, p. 80–87, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2017.06.029>>.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. *Química de alimentos*, 4. ed – Artmed, ISBN 978-85.363-2248-3, 2010.

DAZA MONTAÑO, Claudia *et al.* Torrefied Bamboo for the Import of Sustainable Biomass from Colombia. n. Icl, p. 155, 2013. Disponível em: <<https://www.researchgate.net/publication/278016080>>.

DE CARVALHO SILVELLO, Maria Augusta; MARTÍNEZ, Julian; GOLDBECK, Rosana. Increase of reducing sugars release by enzymatic hydrolysis of sugarcane bagasse intensified by ultrasonic treatment. *Biomass and Bioenergy*, v. 122, n. January, p. 481–489, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2019.01.032>>.

DRUMOND, PATRÍCIA MARIA; WIEDMAN, Guilherme. *Bambus no Brasil*. [S.l: s.n.], 2017.

FREITAS, Caroline; CARMONA, Eleonora; MICHEL, Brienzo. *TOP Xylooligosaccharides production process from lignocellulosic biomass and bioactive effects.pdf*. [S.l: s.n.], 2019

GHANI, Hafiz Usman; GHEEWALA, Shabbir H. Environmental Sustainability Assessment of Molasses-based Bioethanol Fuel in Pakistan. *Sustainable Production and Consumption*, v. 27, p. 402–410, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.spc.2020.11.013>>.

GHOSE, T. K. Measurement of cellulase activities. **Pure and applied Chemistry**, v. 59, n. 2, p. 257-268, 1987.

GOLDBECK, Rosana *et al.* Development of hemicellulolytic enzyme mixtures for plant biomass deconstruction on target biotechnological applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 98, n. 20, p. 8513–8525, 2014.

GONZÁLEZ, P. G.; HERNÁNDEZ-QUIROZ, T.; GARCÍA-GONZÁLEZ, L. The use of experimental design and response surface methodologies for the synthesis of chemically activated carbons produced from bamboo. *Fuel Processing Technology*, v. 127, p. 133–139, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.fuproc.2014.05.035>>.

GOWDHAMAN, D.; PONNUSAMI, V. Production and optimization of xylooligosaccharides from corncob by *Bacillus aerophilus* KGJ2 xylanase and its antioxidant potential. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 79, p. 595–600, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.05.046>>.

GUIMARÃES, Mario *et al.* Caracterização físico-química de fibra e polpas de bambusa vulgaris schrad para utilização em compósitos poliméricos. *Revista Latinoamericana de Metalurgia y Materiales*, v. 33, n. 1, p. 33–42, 2013.

HASUNUMA, Tomohisa; KONDO, Akihiko. Consolidated bioprocessing and simultaneous saccharification and fermentation of lignocellulose to ethanol with thermotolerant yeast strains. *Process Biochemistry*, v. 47, n. 9, p. 1287–1294, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2012.05.004>>.

HE, Ming Xiong *et al.* Bamboo: A new source of carbohydrate for biorefinery. *Carbohydrate Polymers*, v. 111, p. 645–654, 2014.

HERNANDEZ-MENA, Laidy E.; PECORA, Arai A.B.; BERALDO, Antonio L. Slow pyrolysis of bamboo biomass: Analysis of biochar properties. *Chemical Engineering Transactions*, v. 37, p. 115–120, 2014.

HOLTZAPPLE, M.T. Introduction 0001 Structure. *Structure*, p. 3060–3070, 2003.

HONG, Changyoung *et al.* Xylooligosaccharides as prebiotics from biomass autohydrolyzate. *LWT*, v. 111, p. 703–710, 2019.

HUANG, Caoxing; WANG, Xucai; *et al.* Biotechnology for Biofuels A sustainable process for procuring biologically active fractions of high - purity xylooligosaccharides and water - soluble lignin from Moso bamboo prehydrolyzate. *Biotechnology for Biofuels*, p. 1–13, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s13068-019-1527-3>>.

HUANG, Caoxing; LIN, Wenqian; *et al.* Coupling the post-extraction process to remove residual lignin and alter the recalcitrant structures for improving the enzymatic digestibility of acid-pretreated bamboo residues. *Bioresource Technology*, v. 285, n. April, p. 121355, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121355>>.

HUANG, Caoxing *et al.* Facilitating the enzymatic saccharification of pulped bamboo residues by degrading the remained xylan and lignin-carbohydrates complexes. *Bioresource Technology*, v. 192, p. 471–477, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2015.06.008>>.

HUANG, Chen; FANG, Guigan; *et al.* Maximizing enzymatic hydrolysis efficiency of bamboo with a mild ethanol-assistant alkaline peroxide pretreatment. *Bioresource Technology*, v. 299, n. October 2019, p. 122568, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122568>>.

HUANG, Chen; ZHAN, Yunni; *et al.* Modified alkaline peroxide pretreatment: An efficient path forward for bioethanol production from bamboo. *Energy Conversion and Management*, v.

224, n. September, p. 113365, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.enconman.2020.113365>>.

ISIKGOR, Furkan H; BECER, C Remzi. Polymer Chemistry the production of bio-based chemicals and polymers. p. 4497–4559, 2015.

JIANG, Zehui; FEI, Benhua; LI, Zhiqiang. Pretreatment of bamboo by ultra-high pressure explosion with a high-pressure homogenizer for enzymatic hydrolysis and ethanol fermentation. *Bioresource Technology*, v. 214, p. 876–880, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2016.05.025>>.

JOUZANI, Gholamreza Salehi; TAHERZADEH, Mohammad J. Advances in consolidated bioprocessing systems for bioethanol and butanol production from biomass: A comprehensive review. *Biofuel Research Journal*, v. 2, n. 1, p. 152–195, 2015.

KAMEL, Rabab *et al.* Nanocellulose: From an agricultural waste to a valuable pharmaceutical ingredient. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 163, p. 1579–1590, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.07.242>>.

KIAN, L. K. *et al.* Properties and characteristics of nanocrystalline cellulose isolated from olive fiber. *Carbohydrate Polymers*, v. 241, n. February, p. 116423, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116423>>.

LOPES, A. M.; FERREIRA FILHO, E. X.; MOREIRA, L. R.S. An update on enzymatic cocktails for lignocellulose breakdown. *Journal of Applied Microbiology*, v. 125, n. 3, p. 632–645, 2018.

LORENCI WOICIECHOWSKI, Adenise *et al.* Lignocellulosic biomass: Acid and alkaline pretreatments and their effects on biomass recalcitrance – Conventional processing and recent advances. *Bioresource Technology*, v. 304, n. October 2019, p. 122848, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122848>>.

LOWRY, Oliver H. *et al.* Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of biological chemistry*, v. 193, n. 1, p. 265-275, 1951.

MANO, Mario Cezar Rodrigues *et al.* Oligosaccharide biotechnology : an approach of prebiotic revolution on the industry. 2017.

MARINHO, Nelson Potenciano *et al.* Dendrocalamus giganteus). *Ciência Florestal*, v. 22, n. 2, p. 413–418, 2012.

MILLER, Gail Lorenz. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical chemistry*, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959.

MOON, Robert J. *et al.* *Cellulose nanomaterials review: Structure, properties and nanocomposites*. [S.l: s.n.], 2011. v. 40.

MORÁN, Juan I. *et al.* Extraction of cellulose and preparation of nanocellulose from sisal fibers. *Cellulose*, v. 15, n. 1, p. 149–159, 2008.

OH, Sang Youn *et al.* FTIR analysis of cellulose treated with sodium hydroxide and carbon dioxide. *Carbohydrate Research*, v. 340, n. 3, p. 417–428, 2005.

OLIVEIRA, Rodrigo Lira De; SILVA, Marcos Fellipe Da; PORTO, Tatiana Souza. Imobilização da frutossiltransferase de *Aspergillus aculeatus* por aprisionamento em alginato e ágar-ágar. *Revista Brasileira de Agrotecnologia - REBAGRO*, v. 2, n. 2317–3114, 2017.

PATRÍCIA ÁVILA, JOÃO PAULO CAIRO, ANDRÉ DAMASIO, MARCUS FORTE, Rosana Goldbeck. *Xylooligosaccharides production from a sugarcane biomass mixture Effects of commercial enzyme combinations.pdf*. . [S.l: s.n.]. , 2020

PIRES, João R.A.; SOUZA, Victor G.L.; FERNANDO, Ana Luísa. Valorization of energy crops as a source for nanocellulose production – Current knowledge and future prospects. *Industrial Crops and Products*, v. 140, n. August, p. 111642, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111642>>.

QING, Qing *et al.* Dilute acid catalyzed fractionation and sugar production from bamboo shoot shell in γ -valerolactone/water medium. *RSC Advances*, v. 8, n. 31, p. 17527–17534, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1039/C8RA02891E>>.

RASHID, Sumira; DUTTA, Himjyoti. Characterization of nanocellulose extracted from short, medium and long grain rice husks. *Industrial Crops and Products*, v. 154, n. July 2019, p. 112627, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112627>>.

SAHA, Badal C. Hemicellulose bioconversion. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, v. 30, n. 5, p. 279–291, 2003.

SALIBA, Eloísa de Oliveira Simões *et al.* Ligninas: métodos de obtenção e caracterização química. *Ciência Rural*, v. 31, n. 5, p. 917–928, 2001.

SAMANTA, A K *et al.* Xylooligosaccharides as prebiotics from agricultural by-products : Production and applications. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, v. 5, n. 1, p. 62–71,

2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bcdf.2014.12.003>>.

SANTOS, S. F. M. Estudo da produção de pectinases por fermentação em estado sólido utilizando pedúnculo de cajú como substrato .2007. **Tese** (Doutorado em Engenharia Química). Departamento de Engenharia Química. Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

SANTOS, Livia Caroline Dos *et al.* Production of biogas (methane and hydrogen) from anaerobic digestion of hemicellulosic hydrolysate generated in the oxidative pretreatment of coffee husks. *Bioresource Technology*, v. 263, n. March, p. 601–612, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.05.037>>.

SCOLFORO., Carmelita Zacchi; MADEIRA, Erika. Elaboração De Geleia De Maçã Enriquecida Com Fruto-Oligossacarídeo. *Alim. Nutr.= Braz. J. Food Nutr.*, v. 24, p. 115–125, 2013.

SHAHSAVARANI, Hosein *et al.* Enhanced bio-ethanol production from cellulosic materials by semi-simultaneous saccharification and fermentation using high temperature resistant *Saccharomyces cerevisiae* TJ14. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, v. 115, n. 1, p. 20–23, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiosc.2012.07.018>>.

SILVA, Simone S. *et al.* Extração e caracterização de xilanas de sabugos de milho. *Polímeros*, v. 8, n. 2, p. 25–33, 1998.

SILVA, O. S.; OLIVEIRA, R. L.; SOUZA-MOTTA, C. M.; PORTO, A. L. F.; PORTO, T. S. Novel protease from *Aspergillus tamaraii* URM4634: Production and characterization using inexpensive agroindustrial substrates by solid-state fermentation. **Advances in Enzyme Research**, v.4, p. 125-143, 2016.

SINGH, Ramkrishna D.; BANERJEE, Jhumur; ARORA, Amit. Prebiotic potential of oligosaccharides: A focus on xylan derived oligosaccharides. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, v. 5, n. 1, p. 19–30, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bcdf.2014.11.003>>.

SORN, Virak *et al.* Effect of microwave-assisted ionic liquid/acidic ionic liquid pretreatment on the morphology, structure, and enhanced delignification of rice straw. *Bioresource Technology*, v. 293, p. 121929, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121929>>.

SLUITER, A. *et al.* Laboratory analytical procedure: Determination of ash in biomass. National

Renewable Energy Laboratory, NREL/TP-510-42622, Golden CO,2005.

SLUITER, Amie et al. Determination of structural carbohydrates and lignin in biomass. Laboratory analytical procedure, v. 1617, p. 1-16, 2008.

TAHERZADEH, Mohammad J.; KARIMI, Keikhosro. *Pretreatment of lignocellulosic wastes to improve ethanol and biogas production: A review*. [S.l: s.n.], 2008. v. 9.

TEIXEIRA, Vanessa S. et al. Robustness and Ethanol Production of Industrial Strains of *Saccharomyces cerevisiae* Using Different Sugarcane Bagasse Hydrolysates. *Journal of Applied Biotechnology*, v. 7, n. 1, p. 23, 2019.

THOMAS, Paul et al. Comprehensive review on nanocellulose: Recent developments, challenges and future prospects. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, v. 110, n. April, p. 103884, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2020.103884>>.

TOMME, P; WARREN, R a; GILKES, N R. *Cellulose hydrolysis by bacteria and fungi*. [S.l: s.n.], 1995. v. 37.

WANG, Kai li et al. *Characterization of hemicelluloses in Phyllostachys edulis (moso bamboo) culm during xylogenesis*. *Carbohydrate Polymers*. [S.l: s.n.], 2019

WIJAYA, Christian J. et al. Optimization of cellulose nanocrystals from bamboo shoots using Response Surface Methodology. *Heliyon*, v. 5, n. 11, p. e02807, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02807>>.

XIAO, Xiao et al. Autohydrolysis of bamboo (*Dendrocalamus giganteus* Munro) culm for the production of xylo-oligosaccharides. *Bioresource Technology*, v. 138, p. 63–70, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2013.03.160>>.

XU, Fei xiang et al. TG-FTIR for kinetic evaluation and evolved gas analysis of cellulose with different structures. *Fuel*, v. 268, n. December 2019, p. 117365, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.fuel.2020.117365>>.

XU, Jia Tong; CHEN, Xiao Quan. Preparation and characterization of spherical cellulose nanocrystals with high purity by the composite enzymolysis of pulp fibers. *Bioresource Technology*, v. 291, n. June, p. 121842, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121842>>.

YANG, Dong *et al.* Studies on the structural characterization of lignin, hemicelluloses and cellulose fractionated by ionic liquid followed by alkaline extraction from bamboo. *Industrial Crops and Products*, v. 43, n. 1, p. 141–149, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.07.024>>.

YANG, Haiyan *et al.* Bioethanol production from bamboo with alkali-catalyzed liquid hot water pretreatment. *Bioresource Technology*, v. 274, n. October 2018, p. 261–266, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.11.088>>.

YU, Nengfu *et al.* Study on extraction of xylan from bamboo shoot shell. *Lecture Notes in Electrical Engineering*, v. 250 LNEE, n. VOL. 2, p. 923–929, 2014.

YUAN, Zhaoyang *et al.* A comparison of different pre-extraction methods followed by steam pretreatment of bamboo to improve the enzymatic digestibility and ethanol production. *Energy*, v. 196, p. 117156, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.energy.2020.117156>>.

ZHANG, Hongyu; XU, Yong; YU, Shiyuan. Bioresource Technology Co-production of functional xylooligosaccharides and fermentable sugars from corncob with effective acetic acid prehydrolysis. *Bioresource Technology*, v. 234, p. 343–349, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2017.02.094>>.

ZHANG, Zisheng; DONALDSON, Adam A.; MA, Xiaoxun. Advancements and future directions in enzyme technology for biomass conversion. *Biotechnology Advances*, v. 30, n. 4, p. 913–919, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2012.01.020>>.

ZILLIOX, Caroline; DEBEIRE, Philippe. Hydrolysis of wheat straw by a thermostable endoxylanase: Adsorption and kinetic studies. *Enzyme and Microbial Technology*, v. 22, n. 1, p. 58–63, 1998.

APÊNCIDE

Artigo de Revisão publicado na *Current Opinion in Food Science*; Qualis A1,
Fator de Impacto: 4,577



ELSEVIER

Available online at www.sciencedirect.com

ScienceDirect

Current Opinion in
Food
Science

Bamboo as an eco-friendly material for food and biotechnology industries

Marcos F Silva¹, Michele EC Menis-Henrique²,
Mária HF Felisberto^{2,3}, Rosana Goldbeck¹ and
Maria TPS Clerici²

Bamboo is popularly known for industrial applications in papermaking, furniture, building sector, shoot-based food products, fiber extraction, and as a raw material in biotechnology and bioprocesses. Young bamboo culms have proven to be a potential material for fiber and/or starch extraction for food applications; however, further studies are needed to evaluate the potential of the various bamboo species. In addition, studies addressing the economic viability of bioprocesses using bamboo culms as raw material, the treatment of biomass for full utilization of plant material, and the evaluation of the effluents generated are also required.

Addresses

¹ Bioprocess and Metabolic Engineering Laboratory, Department Food Engineering, School of Food Engineering, University of Campinas (UNICAMP) – Cidade Universitária Zeferino Vaz, 80th Monteiro Lobato Street, 13.083-862, Campinas, São Paulo, Brazil

² Department of Food Technology, School of Food Engineering, University of Campinas (UNICAMP) – Cidade Universitária Zeferino Vaz, 80th Monteiro Lobato Street, 13.083-862, Campinas, São Paulo, Brazil

³ Department of Food Technology, Federal University of Viçosa (UFV), Av. P. H. Rolfs s/n, 36.570-900, Viçosa, MG, Brazil

Corresponding author: Clerici, Maria TPS (mclerici@unicamp.br)

Current Opinion in Food Science 2020, 33:124–130

This review comes from a themed issue on **Food physics and materials science**

Edited by **Maria Teresa Pedrosa Silva Clerici**

<https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.02.008>

2214-7993/© 2020 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Introduction

Bamboo is a plant that belongs to the family *Poaceae* (like maize, wheat, rye, oat, sugarcane, barley, and rice) and it is spread over 1250 species under 75 genera in the world [1]. According to the International Network for Bamboo and Rattan [2], the domestic market for bamboo and rattan products in 2012 moved about US\$ 34.2 billion, thus it has been called as green gold. Worldwide, China and Thailand are the countries with the most developed

bamboo economy; in Brazil, no data are available on the production and demand of local markets.

As reported by FAO/INBAR [3], Asia owns the richest bamboo resources with a total area of over 10 million hectares located in southeastern and over 5.4 million hectares in China. In Brazil, the bamboo-dominant area is located in the southwestern Amazon with about 18 million hectares of forest. Although the total forest areas in many countries have drastically decreased, the bamboo forest area has progressively increased at a rate of 3% annually [4]. Brazil is home to one of the largest native bamboo reserves in the world (180 000 km²), which is located in southwestern Amazonia [5], with 89% of all bamboo genus and 65% of all species known in America, including *Dendrocalamus asper*, *Bambusa tuldoides*, and *Bambusa vulgaris* [6–8].

Most scientific studies on bamboo have focused on the agronomic area [9,10], industrial culm applications [11,12], fiber extraction, or in shoot-based food products, either fresh or fermented [13–16]. The shoot processing conditions are well established, being recommended that only 20–30% of shoots can be removed for maintaining a sustainability extraction, and a bamboo grove can last for a hundred years or more [17].

Old bamboo culm is used for the production of paper, furniture, decoration objects, and in the building sector, due to its mechanical properties. It can also be used in the production of medicines due to the high phytosterols levels of bamboo shoots [18,12,8,19]. However, the substantial starch content present in young and mature culm parenchyma cells can be attractive to insects and microorganisms, causing infestations that destroy industrial bamboo products [20,8].

Since bamboo has a composition of varied carbohydrates, from simple sugars, starches, hemicellulose and cellulose, and it as levels of protein and lipids of less than 2–3%, it is a potential candidate for studies of processes of separation and application of these carbohydrates, both in the food industry and in biotechnology products, such as second generation alcohol, prebiotics, among others.

Food applications of bamboo

Bamboo shoot fiber is the best-known bamboo products in the food industry. In eastern countries, it is consumed

in the form of preserves and snacks, but at an industrial level it is used for the production of fibers, such as Jelucel®BF [21], Nutriloid® Bamboo Fiber [22] and CreaFibe [23]. These fibers have great acceptance in the international market, which have been used in the formulation of breads, pasta, meat products, cheese, and yogurt, increasing the fiber content of the products and conferring a healthy claim [24,25,18,1,13,14], without affecting the color, flavor or odor of the products, and for this reason it is widely used as a source of fibers for gluten-free products.

Studies have shown that bamboo shoot fibers can improve the sensory characteristics of some food products. Mustafa *et al.* [26] and Thomas *et al.* [27] studied the addition of bamboo shoot fiber in cookies and pork nuggets, and reported a better sensory acceptance of the products, and improvement of the microbiological characteristics of pork nuggets.

However, the yield of the fiber extraction is about 10% of the bamboo shoot, because they have above 90% of moisture. One of the concerns regarding the food use of bamboo shoots is its method of preparation, which requires cooking, with consecutive water changes, to remove cyanogenic compounds. These anti-nutrients can vary according to the species of bamboo and the climatic conditions, as they are a protection of the bamboo shoot. In Asian countries, this concern is less, as they use few species for edible use, but in tropical countries, where there is still no established production chain and a wide variety (more than 200 species being grown in a single country, in the case of Brazil), becomes worrying about the risks of consumption of the sprout, whose preparation follows Asian recipes.

To alleviate these problems, our research team started to study the young culm, in the form of flour, where all the processing allows the removal of the cyanogenic compounds and makes the product with low water activity, increasing its shelf life and making it ready for applications in food products, as can be seen in the paper produced by Felisberto *et al.* This study was innovative and allowed to study three eastern species of bamboo, but which have adapted in South America, more precisely, in Brazil.

The development of young bamboo culm flour (YBCF) was based on the few studies that reported the high content of crude fiber and other polysaccharides in bamboo culms, like starch and sugar [29,30]. According to Banik [31], the young bamboo culm has a peak of starch during their growth; the rhizomes of 2–3-year-old culms (young culms) are a rich reserve of nutrients (starch and nitrogen) and these culms play a functional role in the plant metabolism due to their plentiful leaves. However, these contents depend both on the age of bamboo culms and the species and the culm position [32].

Felisberto *et al.* [33] studied the physicochemical and technological characteristics of YBCF of *D. asper* as a new ingredient for food products. The authors found few differences in the chemical composition of flours obtained from different culm fractions (bottom, middle, and top). When comparing bamboo culm flour produced from three different species, a higher fiber content (>60 g/100 g) was observed for all samples, and the varieties *D. asper* and *B. vulgaris* were also high in starch (10 and 16 g/100 g, respectively) [28].

The young bamboo culm of the *B. tuldooides* variety has the potential for fiber extraction, while the varieties *D. asper* and *B. vulgaris* have the potential for starch extraction, thereby increasing the possible food applications of young bamboo culms as a raw material. Thus, the young bamboo culm flour can be used as a new ingredient for food products, improving the intake of insoluble fiber and considering the consumer demand for healthier products, as an alternative for the whole flours traditionally used in cakes, cookies, and bread formulations, and for thickeners and fat replacers.

Considering the results of the composition of the young bamboo culm, our working group [34*,35*,36,37] studied the starch extraction from three young bamboo culm species (*D. asper*, *B. tuldooides*, and *B. vulgaris*) and the technological properties, aiming to use starches for meeting the demand of the food and non-food industries for new ingredients and natural sources. The authors reported a slightly yellowish coloration, small-sized polyhedral starch granules with an average diameter of 5.59 μ m. Regarding the physicochemical characteristics, the amylose contents of cereal starches ranged from 12 to 40%. The molecular size distribution of both amylose and amylopectin chains showed the same elution volume, with values of 65 and 132.5 mL respectively, with similar peak behavior for both the blue value (BV) response and total sugars (CHO). However, the values observed for amylose peaks were not consistent with the apparent amylose content, which was expected, once there is no amylose standard for bamboo starch.

Concerning the amylopectin chain length, all samples presented the main peak with an average degree of polymerization (DP) of 12–13, and the second peak with DP of 43–45, similar to the amylopectin chain length of wheat, rice, and barley. Although the samples have a large proportion of short (DP 6–12) and long (DP \geq 37) chain lengths, a higher proportion of chains with DP 13–24 was observed, which is the ideal length for the formation of stable double helix [34*,35*,36]. Moreover, shoulders in the chain length distribution were not observed for all starches, suggesting the absence of imperfections in the crystal structure, as reported by Jane *et al.* [38]. The results of amylopectin chain length distribution, besides

similar to the cereal starch pattern, corroborated the type A crystallinity pattern [39–41]. The crystalline relativity (CR) of *D. asper*, *B. tuldooides*, and *B. vulgaris* starches ranged from 19 to 28%, which and was inversely proportional to the apparent amylose content, as expected for native starches [42].

Regarding thermal properties, the authors reported high gelatinization temperatures ($T_p > 80^\circ\text{C}$) and low enthalpy ($\Delta H < 11$) for all starches, which indicates high molecular organization. When comparing the native with the gelatinized starches, the latter showed lower gelatinization temperatures, as expected due to the inadequate realignment of amylose molecules and amylopectin side chains, which led to the formation of less ordered, less crystalline, and less stable structures [43,44].

Until now, our group produced two products: Felisberto *et al.* [45**] evaluated the application of YBCF as a partial replacement for wheat flour (15%) in cookie formulations with partial reduction of sugar and fat. The authors observed a significant effect of sugar reduction on cookies' diameter, with a smaller diameter observed for the cookies with the lowest sugar content (50% of reduction), what was already expected since sugar and fat are the agents responsible for the spread of cookies during baking. The authors selected the formulations with a 50% reduction of sugar and fat (F2 and F3, respectively) and a control formulation (CF) to evaluate the stability and nutritional composition of the cookies during 28 days of storage. The moisture content and water activity of the cookies remained low throughout the storage, as recommended for the maintenance of crispness. The formulations F2 and F3 were light-colored, similar to CF, and presented lower energy value (0.83 and 11.73%, respectively) when compared with CF. The beneficial nutritional effects produced by the addition of bamboo youth flour in cookie formulations can be considered more important than reducing the diameter, in the same way, as breads with reduced volumes, due to the use of whole four or rye grains, which add to the product the functional appeal of the fiber.

The other research from our group [46] was a comparative study between different combinations of bamboo shoot fiber (BSF) and YBCF from *B. tuldooides* as partial replacement of semolina of *Triticum durum* (from 0 to 7.0%) in dry fettuccine pasta formulations. The formulations containing the bamboo fibers (BSF and YBCF) were lighter than the control (100% semolina). However, the replacement up to 3.5%, with BSF or YBCF, made it possible to maintain the characteristics of cooking, firmness and sensory acceptance similar to the paste control. This result corroborates the potential use of the bamboo culm fiber, also contributing to the balance in the clump maintenance.

Biotechnological applications of bamboo

In the field of biotechnology and bioprocesses, bamboo has become an important plant matrix with potential use for obtaining inputs for the food and pharmaceutical industry, such as sugars, prebiotic ingredients, sweeteners, among others, besides being of great interest for processes involving biorefinery, mainly in the production of biofuels and other chemical compounds [47], as shown in Figure 1.

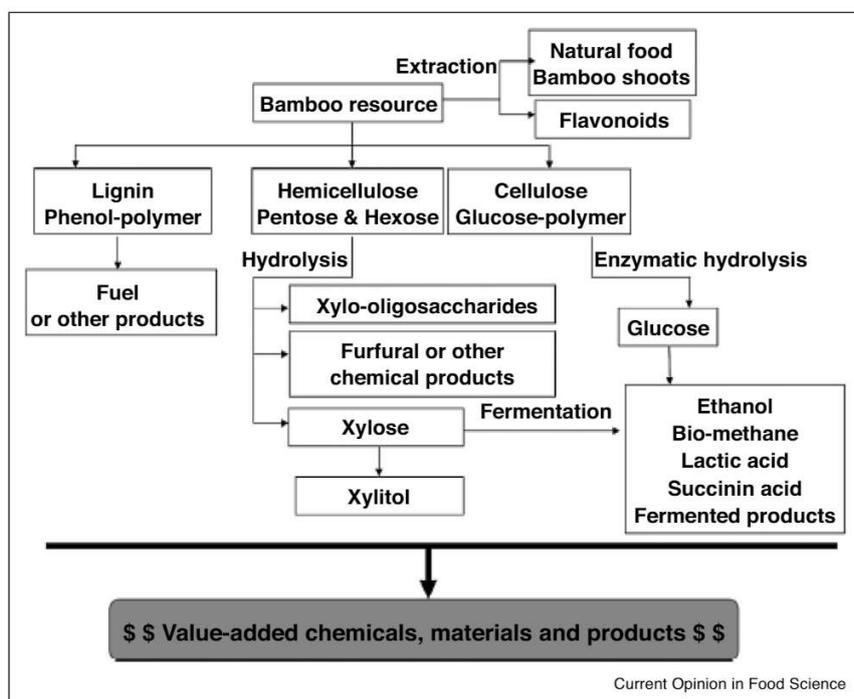
Several plant matrices such as sugarcane bagasse and straw [48], rice and wheat straw [49], corncob [50], among others, have been studied as sources of cellulose and hemicelluloses for the biotechnological production of inputs. Many researchers [47,51,52**,53**] have studied new lignocellulosic biomasses with higher cellulose and hemicellulose contents, mainly for application in processes involving biorefinery. In this scenario, bamboo emerges as lignocellulosic biomass with great biotechnological potential.

As can be seen in Table 1, studies on bamboo characterization have shown that some species, such as *Dendrocalamus latiflorus* and *Guadua amplexilofia*, contain high cellulosic and hemicellulosic fractions when compared to other biomass commonly used in biotechnological processes, thus making them ideal for such applications. Other favorable characteristics of bamboo as plant material, when compared to other lignocellulosic biomass, include the high productivity and biomass density, which reduces the production and transportation costs, the amount of fertilizer, besides not requiring the use of seeds, making cultivation costs lower, thus leading to higher production yields [47].

Several pretreatment and treatment techniques have been described in the literature to hydrolyze the xylan and cellulose chains of lignocellulosic biomass [57]. The xylan present in the hemicellulosic fraction allows obtaining high value-added products such as xylooligosaccharides (prebiotics with multiple applications in the food and pharmaceutical industries) and xylitol (high added value sweetener, obtained from xylose deacetylation), besides xylose, which is a monosaccharide belonging to the pentose class and can be used to produce ethanol [58]. From the cellulosic fraction, it is also possible to obtain glucose, which is a monosaccharide belonging to the class of hexoses and corresponds to one of the substrates most used in alcoholic fermentation processes, besides the production of oligomers, known as celoligosaccharides [47].

There are few studies in the literature about bamboo as a source of lignocellulosic material for bioprocesses, aimed to produce ingredients with industrial interest when compared to other biomasses. Of the few existing studies, some methods to obtain the desired products are reported, such as chemical hydrolysis, which may be either alkaline or acid, enzymatic hydrolysis and self-hydrolysis [11].

Figure 1



Flowchart of the main bioprocesses using bamboo.
Source: adapted from He *et al.* [11].

In general, processes that use the chemical route, whether acidic or alkaline or the route by self-hydrolysis using high temperature and pressure conditions, are usually less expensive and can promote a higher cellulose and xylan degradation

rate, allowing obtaining high yields of monosaccharides such as xylose and glucose. In contrast, depending on the conditions used, the formation of compounds known as inhibitors (furfural and hydroxymethylfurfural) may occur, which are undesirable mainly for alcoholic fermentation, requiring further steps for removal of the compounds [57].

Table 1

Structural composition of various plant matrices commonly used in bioprocesses when compared with some bamboo species

Plant matrix	Percentage %			Reference
	Cellulose	Hemicellulose	Lignin	
Sugarcane bagasse	35.3	22.9	14.7	[48]
Sugarcane Straw	36.7	20.5	11.5	[48]
Rice Straw	30.9	15.7	20.0	[49]
Corn Straw	32.7	33.3	7.0	[50]
Eucalyptus	48.0	13.0	27.0	[11]
Coffee Bark	48.3	28.7	22.7	[51]
Bamboo	45.0	21.0	27.0	[47]
(<i>Bambusa vulgaris</i>)				
Bamboo	47.5	15.4	26.3	[54]
(<i>Dendrocalamus giganteus</i>)				
Bamboo	48.0	37.0	5.0	[55]
(<i>Guadua amplexifolia</i>)				
Bamboo	47.0	23.0	23.0	[56]
Mossô (<i>Phyllostachys heterocycla</i>)				

In contrast, many researchers have used the enzymatic hydrolysis in the treatment of lignocellulosic biomass, once, although it is more costly, it is a more selective method when compared to the chemical processes, allowing the use of mild temperature, pH, and pressure conditions, which facilitates the process control and minimizes inhibitor generation. Higher production yields are reported in the literature, mainly for xylan and cellulose oligomers, depending on the type of enzyme used (cellulases, xylanases, and accessory enzymes) and the conditions employed during the hydrolysis step [59].

Many studies have investigated the effect of the combination of treatments to remove lignin present in biomass, to reduce the formation of inhibitors, and to obtain higher yields. One of the greatest challenges is the optimization of these procedures to enable lower process costs [47]. Table 2 presents some recent studies using lignocellulosic bamboo, together with the combination of techniques used and their yields via biotechnological processes.

Table 2

Methods of pretreatment and/or treatment of bamboo for the biotechnological production of products of industrial interest

Bamboo species	Pre-treatment	Treatment	Products	Yield	Reference
<i>Neosinocalamus affinis</i>	Alkaline (0.5% NaOH at 170 °C)	Enzymatic Hydrolysis (150 rpm, 50 °C for 72 h) followed by fermentation (<i>Sacharomyces cerevisiae</i> , 35 °C, 24 h)	Glucose, Xylose, and Ethanol	53.3%, 57.3% and 4.8 g/L (respectively)	[51]
<i>Phyllostachys heterocycla</i>	Acid (1% H ₂ SO ₄ at 160 °C for 60 min) + Urea (8%)	Enzymatic Hydrolysis (150 rpm, 50 °C for 48 h)	Glucan	61.4%	[52**]
Not mentioned	Acid (0.6% H ₂ SO ₄ , 140 °C for 60 min) + 60% β-valerolactone	Acid Hydrolysis (0.05% H ₂ SO ₄ , 180 °C for 20 min) + 80% γ-valerolactone	Fermentable Sugars	70.7%	[59]
<i>Bambusa blumeana</i>	Self Hydrolysis (100 Mpa) + Alkaline (2% NaOH) at 121 °C for 120 min	Enzymatic Hydrolysis (200 rpm, 50 °C for 48 h) followed by fermentation (<i>Sacharomyces cerevisiae</i> , 150 rpm, 37 °C, 24 h)	Ethanol	89.7%	[60]
Not mentioned	Self Hydrolysis (Aqueous medium at 180 °C for 60 min)	Enzymatic Hydrolysis (150 rpm, 50 °C for 12 h)	Xylo-oligosaccharides	93.2%	[52**]
<i>Dendrocalamus brandisii</i>	Not performed	Acid Hydrolysis (4 g sample in 60 mL concentrated H ₂ SO ₄ at 180 °C for 12 h)	Xylo-oligosaccharides	54.7%	[61]
<i>Phyllostachys pubescens</i>	Acid (3% H ₂ SO ₄ , 121 °C for 1 h)	Fermentation (<i>Candida magnoliae</i> , 30 °C, 400 rpm, 0.67 vvm)	Xylitol	10.5 g/L	[62]
<i>Chusquea bambusoides</i>	Not performed	Extraction (60% ethanol, concentration by rotary evaporation at 50 °C)	Flavonoids	6.44 mg/g	[63]

Conclusion

Young bamboo culm and shoots present a great potential for the food industry, and have a promising future in improving overall food healthiness, due to their high fiber content ratio. They are also very sustainable in the long term, as bamboo plantations can last for over a hundred years, while still providing yearly harvests. Unfortunately, research funding is still lacking when compared to other agricultural commodities, such as cereals and beans. Nevertheless, we believe the works presented in this review will be ample source of inspiration for other researchers who seek new sources of fibers and starches.

Conflict of interest statement

Nothing declared.

Acknowledgements

The authors are grateful to CNPq for the scholarship of the Marcos Fellepe da Silva, to CAPES for funding (001) and the scholarship of the Mária Herminia Ferrari Felisberto, to FAPESP (2015/196374) and (2019/085042-3) and to FAPEX (519292-2425/16) for the financial support.

References and recommended reading

Papers of particular interest, published within the period of review, have been highlighted as:

- of special interest
- of outstanding interest

1. Choudhury D, Sahu J, Sharma GD: **Value addition to bamboo shoots: a review**. *Food Sci Technol* 2012, **49**:407-414.

2. INBAR: *International Trade of Bamboo and Rattan*. Beijing, China 2012.
3. Lobovikov M, Paudel S, Piazza M, Ren H, Wu J: *World Bamboo Resources: A Thematic Study Prepared in the Framework of the Global Forest Resources Assessment 2005*. Non-Wood Forest Products 18 2007.
4. Zhou G, Menh C, Jiang P, Xu Q: **Review of carbon fixation in bamboo forests in China**. *Bot Rev* 2011, **77**:262-270.
5. Dantas AB, Milito CM, Lustosa MCJ, Tonholo J: *O uso do bambu na construção do desenvolvimento sustentável*. Instituto do Bambu; 2005:84.
6. Judziewicz EJ, Clark LG, Londoño X, Stern MJ: *American Bamboos*. Institution Press; 1999:392.
7. Monography: (AP Manhães, Monography, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2008).
8. Pereira MAR, Beraldo AL: *Bambu de corpo e alma*. edn 2. Canal; 2016:352.
9. Liese W: *Anatomy and Properties of Bamboo*. Chinese Academy of Forestry (CAF); 1985:196-208.
10. Silva IFD, Pereira DDS, Silva SRF: **Estudos morfológicos do bambu (*Bambusa cf. vulgaris* L.), uma espécie invasora em área de mata atlântica no parque municipal de Maceió-Alagoas**. *Rev Bras Sementes* 2011, **6**:99-109.
11. He M, Wang J, Qin H, Shui Z, Zhu Q, Wu B, Tan F, Pan K, Hu Q, Dai L *et al.*: **Bamboo: a new source of carbohydrate for biorefinery**. *Carbohydr Polym* 2014, **111**:645-654.
12. Lo TY, Cui HZ, Tang PWC, Leung HC: **Strength analysis of bamboo by microscopic investigation of bamboo fibre**. *Constr Build Mater* 2008, **22**:1532-1535.
13. Nirmala C, David E, Sharma ML: **Changes in nutrient components during ageing of emerging juvenile bamboo shoots**. *Int J Food Sci Nutr* 2007, **58**:612-618.
14. Nongdam P, Tikendra L: **The nutritional facts of bamboo shoots and their usage as important traditional foods of northeast India**. *Int Sch Res Notices* 2014, **2014**:1-17.

15. Park E-J, Jhon D-Y: **Effects of bamboo shoot consumption on lipid profiles and bowel function in healthy young women.** *Nutrition* 2009, **25**:723-728.
16. Park E-J, Jhon D-Y: **The antioxidant, angiotensin converting enzyme inhibition activity, and phenolic compounds of bamboo shoot extracts.** *LWT - Food Sci Technol* 2010, **43**:655-659.
17. Rigueira I Jr: **O Bambu como Estrutura.** *Boletim UFMG* 2011, **37**:4-5.
18. Chongtham N, Bisht MS, Haorongbam S: **Nutritional properties of bamboo shoots: potential and prospects for utilization as a health food.** *Compr Rev Food Sci Food Saf* 2011, **10**:153-168.
19. Xuhe C: **Promotion of bamboo for poverty alleviation and economic development.** *J Bamboo Rattan* 2003, **2**:345-350.
20. Azzini A, Arruda MCQ, Ciaramello I, Salgado ALB, Tomazello Filho M: **Produção conjunta de fibras celulósicas e etanol a partir do bambu.** *Bragantia* 1987, **46**:17-25.
21. JELU-WERK: *Bamboo Fibres as Food Additives*. 2016. Ludwigsühle, Germany [date Accessed 11 May 2016] <http://www.jelu-werk.com/cellulose/products/plant-fibres/jelucel-bf-bamboo-fibre/>.
22. TIC-GUMS: *Nutriloïd® Bamboo Fiber*. 2016. Philadelphia, USA [date Accessed 11 May 2016] <http://www.ticgums.com/products/nutriloïd/product/nutriloïd-bamboo-fiber.html>.
23. NUTRASSIM: *Nutrassim Food Ingredients*. 2017. [date Accessed 17 February 2017] <http://www.ticgums.com/products/nutriloïd/product/nutriloïd-bamboo-fiber.html>.
24. Satya S, Bal LM, Singhal P, NaikSN: **Bamboo shoot processing: food quality and safety aspect (a review).** *Trends Food Sci Technol* 2010, **21**:181-189.
25. Visuphaka K: *The Role of Bamboo as a Potential Food Source in Thailand.* Chinese Academy of Forestry (CAF); 1985:301-303.
26. Mustafa U, Naeem N, Masood S, Farooq Z: **Effect of bamboo powder supplementation on physicochemical and organoleptic characteristics of fortified cookies.** *Food Sci Technol* 2016, **4**:7-13.
27. Thomas R, Jebin N, Saha R, Sarma DK: **Antioxidant and antimicrobial effects of kordoi (*Averrhoa carambola*) fruit juice and bamboo (*Bambusa polymorpha*) shoot extract in pork nuggets.** *Food Chem* 2016, **190**:41-49.
28. Felisberto MHF, Miyake PSE, Beraldo AL, Clerici MTPS: **Young bamboo culm: potential food as source of fiber and starch.** *Food Res Int* 2017, **101**:96-102.
29. Li Z, Li X, Zhang Y, Ren T, Zhao Y, Zeng X, Van Der Heide E: **Tribological study of a highly hydrolytically stable phenylboronic acid ester containing benzothiazolyl in mineral oil.** *Appl Surf Sci* 2014, **308**:91-99.
30. Sun Z-Y, Tang Y-Q, Iwanaga T, Sho T, Kida K: **Production of fuel ethanol from bamboo by concentrated sulfuric acid hydrolysis followed by continuous ethanol fermentation.** *Bioresour Technol* 2011, **102**:10929-10935.
31. Banik RL: **Morphology and growth.** In *Bamboo - The Plant and its Uses*. Edited by LIESE W, KOHL M. Springer; 2015:43-89.
32. Azzini A, Beraldo AL: **Starch and cellulosic fibers determination from laminated chips of three giant bamboo species.** *Sci For* 2000, **57**:45-51.
33. Felisberto MHF, Beraldo AL, Clerici MTPS: **Young bamboo culm flour of *Dendrocalamus asper*: technological properties for food applications.** *LWT - Food Sci Technol* 2017, **76**:230-235 Part B.
34. Felisberto MHF, Beraldo AL, Costa MS, Boas FV, Franco CML, Clerici MTPS: **Characterization of young bamboo culm starch from *Dendrocalamus asper*.** *Food Res Int* 2019, **124**:222-229
This study characterized the starch, extracted in aqueous solution, from three different parts (bottom, middle, and top) of the young bamboo culm of *Dendrocalamus asper*. The morphological and physicochemical characteristics and thermal properties of the young bamboo culm starches were evaluated.
35. Felisberto MHF, Beraldo AL, Costa MS, Boas FV, Franco CML, Clerici MTPS: **Physicochemical and structural properties of starch from young bamboo culm of *Bambusa tuldoïdes*.** *Food Hydrocoll* 2019, **87**:101-107
The morphology, structure, as well as physicochemical and thermal properties of starch extracted from three different parts of the young culm (bottom, middle and top) of *B. tuldoïdes* were evaluated. The starches presented characteristics of native starches and were similar to the starches traditionally used, being an alternative source to traditional starches as rice, wheat, or corn.
36. *PhD Theses: (MHF Felisberto, Characterization and Evaluation of Flour and Starch of Young Culm of *Dendrocalamus asper*, *Bambusa tuldoïdes* and *Bambusa vulgaris* for Cookies Application, School of Food Engineering, University of Campinas; 2018.*
37. Felisberto MHF, Beraldo AL, Costa MS, Boas FV, Franco CML, Clerici MTPS: ***Bambusa vulgaris* starch: characterization and technological properties.** *Food Res Int* 2020, **132**:1091021-1091028 <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109102>.
38. Jane J-L, Chen YY, Lee LF, Mcpherson AE, Wong KS, Radosavljevic M, Kasemsuwan T: **Effects of amylopectin branch chain length and amylose content on the gelatinization and pasting properties of starch.** *Cereal Chem* 1999, **76**:629-637.
39. Hizukuri S: **Polymodal distribution of the chain lengths of Amylopectins, and its significance.** *Carbohydr Res* 1986, **147**:342-347.
40. Jane J-L: **Current understanding on starch granule structures.** *J Appl Glycosci* 2006, **53**:205-213.
41. BEMILLER J, WHISTLER R: *Starch: Chemistry and Technology*. edn 3. Academic Press; 2009:894.
42. Cheetham NWH, Tao L: **Variation in crystalline type with amylose content in maize starch granules: an X-ray powder diffraction study.** *Carbohydr Polym* 1998, **36**:277-284.
43. Karim AA, Norziah MH, Seow CC: **Methods for the study of starch retrogradation.** *Food Chem* 2000, **71**:9-36.
44. Singh N, Singh J, Kaur L, Singh SN, Singh GB: **Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources.** *Food Chem* 2003, **81**:219-231.
45. Felisberto MHF, Miyake PSE, Beraldo AL, Fukushima AR, Leoni LAB, Clerici MTPS: **Effect of the addition of young bamboo culm flour as a sugar and/or fat substitute in cookie formulations.** *Food Sci Technol* 2019, **39**:867-874
This study evaluated the effect of partial substitution (15%) of wheat flour by young bamboo culm flour (YBCF) in cookies formulations, using a central composite design with two variables (sugar and fat reductions) and three replicates at the central point. In addition to its high fiber content, the use of YBCF allows the reduction of up to 50% sugar and fat in cookies.
46. *Master Thesis: (AR Ferreira, Massas alimentícias secas do tipo fettuccine obtidas a partir da substituição parcial da semolina de *Triticum durum* por fibras brancas).* School of Food Engineering, University of Campinas; 2018.
47. Lima AL, Shirasuna RT, Mena LEH, Lipschhitts DL, Pécora AAB, Bizzo WA: **Potencial de produção sustentável a partir de bambus brasileiros: energia, biocombustíveis e matérias-primas.** In *Bambus no Brasil: da biologia à tecnologia*. Edited by Drummond PM, Wiedman G. ICH; 2017:601-625.
48. Bizzo WA, Lenço PC, Carvalho DJ, Veiga JPS: **The generation of residual biomass during the production of bio-ethanol from sugarcane, its characterization and its use in energy production.** *Renew Sustain Energy Rev* 2014, **29**:589-603.
49. Sorn V, Chang K-L, Phitsuwan P, Ratanakhanokchai K, Dong C-D: **Effect of microwave-assisted ionic liquid/acidic ionic liquid pretreatment on the morphology, structure, and enhanced delignification of rice straw.** *Bioresour Technol* 2019, **293**:121929.
50. Wang P, Liu C, Chang J, Yin Q, Huang W, Liu Y, Dang X, Gao T, Lu F: **Effect of physicochemical pretreatments plus enzymatic hydrolysis on the composition and morphologic structure of corn straw.** *Renew Energy* 2019, **138**:502-508.

130 Food physics and materials science

51. Santos LCD, Adarme OFH, Baêta BEL, Gurgel LVA, Aquino SF: **Production of biogas (methane and hydrogen) from anaerobic digestion of hemicellulosic hydrolysate generated in the oxidative pretreatment of coffee husks.** *Bioresour Technol* 2018, **263**:601-612.
52. Yang H, Shi Z, Xu G, Qin Y, Deng J, Yang J: **Bioethanol production from bamboo with alkali-catalyzed liquid hot water pretreatment.** *Bioresour Technol* 2019, **274**:261-266
 This study had the goal of improving cell wall digestibility using alkaline liquid hot water to pretreat of the *N. affinis*. The findings showed that pretreatments partly removed and degraded hemicelluloses and lignin, reducing yields of substrates and molecular weights of carbohydrates.
53. Huang C, Lin W, Lai C, Li X, Jin Y, Yong Q: **Coupling the post-extraction process to remove residual lignin and alter the recalcitrant structures for improving the enzymatic digestibility of acid-pretreated bamboo residues.** *Bioresour Technol* 2019, **285**:121355
 A mild and facile post-extraction using different reagents was evaluated to overcome the recalcitrant structures and improving the enzymatic digestibility of acid-pretreated bamboo residues by removing the lignin and disrupting its inhibitory properties.
54. Hernandez-Mena LE, Pécora AAB, Beraldo AL: **Slow pyrolysis of bamboo biomass: analysis of biochar properties.** *Chem Eng Trans* 2014, **37**:115-120.
55. González PG, Hernández-Quiroz T, García-González L: **The use of experimental design and response surface methodologies for the synthesis of chemically activated carbons produced from bamboo.** *Fuel Process Technol* 2014, **127**:33-139.
56. Li Z, Jiang Z, Fei B, Cai Z, Pan X: **Comparison of bamboo green, timber and yellow in sulfite, sulfuric acid and sodium hydroxide pretreatments for enzymatic saccharification.** *Bioresour Technol* 2014, **151**:91-99.
57. Isikgor FH, Becer CR: **Lignocellulosic biomass: a sustainable platform for the production of bio-based chemicals and polymers.** *Polym Chem* 2015, **6**:4497-4559.
58. Zhang H, Xu Y, Yu S: **Co-production of functional xylooligosaccharides and fermentable sugars from corncob with effective acetic acid prehydrolysis.** *Bioresour Technol* 2017, **234**:343-349.
59. Singh RD, Banerjee J, Arora A: **Prebiotic potential of oligosaccharides: a focus on xylan derived oligosaccharides.** *Bioact Carbohydr Diet Fibre* 2015, **5**:19-30.
60. Qing Q, Gao X, Wang P, Guo Q, Xu Z, Wang L: **Dilute acid catalyzed fractionation and sugar production from bamboo shoot shell in γ -valerolactone/water medium.** *RSC Adv* 2018, **8**:17527-17534.
61. Jiang Z, Fei B, Li Z: **Pretreatment of bamboo by ultra-high pressure explosion with a high-pressure homogenizer for enzymatic hydrolysis and ethanol fermentation.** *Bioresour Technol* 2016, **214**:876-880.
62. Bai Y-Y, Xiao L-P, Sun R-C: **Microwave-assisted conversion of biomass derived hemicelluloses into xylo-oligosaccharides by novel sulfonated bamboo-based catalysts.** *Biomass Bioenergy* 752015245253.
63. Miura M, Watanabe I, Shimotori Y, Aoyama M, Kojima Y, Kato Y: **Microbial conversion of bamboo hemicellulose hydrolysate to xylitol.** *Wood Sci Technol* 2013, **47**:515-522.