

Capítulo 5

Nanocelulosas a partir de biomasas con amplio potencial industrial en Costa Rica

Diego Batista-Menezes¹

Gabriela Montes de Oca-Vásquez¹

Melissa Camacho-Elizondo¹

Nicole Leco²

Mary Lopretti²

José Roberto Vega-Baudrit³

<https://doi.org/10.61728/AE20246068>

¹ Laboratorio Nacional de Nanotecnología LANOTEC, Centro Nacional de Alta Tecnología CeNAT, San José, Costa Rica.

² Laboratorio de Técnicas Nucleares Aplicadas a la Bioquímica y Biotecnología, Centro de Investigaciones Nucleares, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

³ Laboratorio de Investigación y Desarrollo en Polímeros, Escuela de Química, Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica.

Resumen

La biomasa lignocelulósica, que anualmente supera los 8 billones de toneladas a nivel global, se posiciona como una fuente de materia prima invaluable. Costa Rica, con su próspera agroindustria, destaca en productos como banano, piña y café, contribuyendo significativamente al panorama mundial. Aunque el sector agropecuario representa alrededor del 10 % del PIB, la gestión de residuos presenta desafíos notables, ya que aproximadamente la mitad de las fincas no cuenta con un tratamiento adecuado de sus residuos. Ante este escenario, estrategias como la incorporación de residuos en procesos productivos emergen como soluciones clave para crear valor agregado en diversas industrias. La composición química de los residuos biomásicos, principalmente celulosa, hemicelulosa y lignina, posibilita su fraccionamiento y extracción para la síntesis de productos como etanol, enzimas y nanocelulosa. Esta última, derivada de la celulosa, destaca por sus notables propiedades mecánicas, térmicas y biocompatibles, consolidándose como un material de alto valor. La despolimerización de la biomasa puede llevarse a cabo mediante tratamientos químicos, químico-mecánicos o biológicos, como la hidrólisis enzimática. La integración de nanofibras de celulosa, producto derivado de la nanocelulosa, ha suscitado un interés creciente en diversas industrias, desde polímeros y materiales hasta aplicaciones médicas y alimenticias. Su incorporación en membranas poliméricas ha mejorado significativamente las propiedades mecánicas, lo que podría tener aplicaciones prometedoras en la conservación de alimentos y la administración de fármacos. Además, se están investigando la viabilidad de la producción a escala industrial y la generación de recubrimientos antimicrobianos a partir de subproductos del proceso de producción de nanocelulosa. Este capítulo detalla los tratamientos y técnicas empleados por el Laboratorio Nacional de Nanotecnología y presenta experiencias prácticas en diversas áreas, respaldadas por proyectos nacionales e internacionales.

Introducción

Diferentes fuentes de biomasa lignocelulósica se producen en todo el mundo. Se calcula que son más de 8 billones de toneladas que se utilizan anualmente, de estas, alrededor de 7 billones de toneladas/año se generan a partir de actividades agrícolas y forestales dedicadas al consumo humano, y aproximadamente 1,3 billones de toneladas/año provienen de residuos agrícolas (Chiu y Lo, 2016; Dahmen et al., 2018; Devi et al., 2022).

En este contexto, cabe destacar la actividad agroindustrial de Costa Rica, ya que de acuerdo con las cifras analizadas en el Informe sobre el Desempeño del Sector Agropecuario, Pesquero y Rural del 2021, la agricultura ampliada (sector primario más agroindustrial) contribuyó con cerca del 10,0 % del PIB con respecto al estimado en el 2020, además, las exportaciones de cobertura agropecuaria aportaron un 38,9 % del valor total exportado por el país y generaron divisas en un 14,2 % más que lo reportado en el 2020, lo que convierte a Costa Rica en un exportador neto de productos agropecuarios. Además, según datos del 2021, los principales productos de origen agropecuario exportados lo constituyen el banano (1080,8 millones US\$), la piña (967,2 millones US\$), los jarabes y concentrados (450,8 millones US\$), el café (325,6 millones US\$) y el aceite de palma (131,5 millones US\$) (Informe de gestión del Sector Agropecuario, Pesquero y Rural de Costa Rica, 2021).

Sin embargo, el sector agropecuario costarricense, como toda actividad económica y humana, genera presión sobre los ecosistemas; cerca del 50 % de las fincas agrícolas no disponen de ningún tipo de tratamiento para sus residuos, generando la necesidad de un cambio en las condiciones de manejo de residuos. De ahí que, algunas estrategias como la modificación de los procesos a través de la incorporación de residuos en el sistema productivo o el uso de estos como materia prima en la obtención de otros subproductos, surgen como alternativas para generar un valor agregado en otras industrias, tales como la alimentaria, médica, agrofertilizantes, envases biodegradables, entre otras (Suárez, 2022).

Dado a que la composición química de estos residuos biomásicos consisten principalmente en celulosa, hemicelulosa y lignina, estos componentes pueden ser fraccionados y extraídos para la síntesis de diversos productos como el etanol (Saravanan et al., 2022), inducción de enzimas

(Menezes et al., 2017) y nanocelulosa (Silva et al., 2021). Entre los componentes de la materia lignocelulósica, la celulosa comprende el mayor porcentaje, y es considerado el biopolímero más abundante en la naturaleza. La celulosa, posee diferentes características deseables para su aplicación industrial, como baja densidad, alta cristalinidad, rigidez, resistencia a la tracción, transparencia y biodegradabilidad, además de la posibilidad de reciclaje, renovación, bajo costo, y bajo impacto ambiental durante su producción (Lee et al., 2014; Sharma et al., 2019). En los últimos años, la conversión de materiales lignocelulósicos como la celulosa en productos de alto valor agregado ha ganado mucho interés tanto para los académicos como para la industria (Ahmad Khorairi et al., 2021).

La nanocelulosa producida a partir de la celulosa, constituye un material de alto valor agregado. Recientemente, estudios sobre la extracción y uso de la nanocelulosa, ha recibido mucha atención en muchas industrias debido a sus propiedades mecánicas, como alta resistencia y rigidez, propiedades térmicas como bajo coeficiente de expansión térmica, además de su baja densidad, alta biocompatibilidad y biodegradabilidad (Akatan et al., 2022).

Para obtener nanofibras de celulosa a partir de residuos lignocelulósicos es necesario despolimerizar las paredes celulares por métodos químicos, químico-mecánicos y/o biológicos (Karthika et al., 2013). Lo que determina la elección del tratamiento químico o químico-mecánico es la longitud de la cadena, el ancho de las nanofibras, así como la morfología y la composición del residuo. De acuerdo con las materias primas utilizadas y las técnicas de despolimerización empleadas, se pueden presentar cambios en el grado de ordenamiento y estructuración de la cadena obtenida, es decir, se puede alterar el tamaño de la fibra de celulosa, así como su morfología (Kakroodi et al., 2014). Sin embargo, en la literatura se describe que las nanofibras de celulosa pueden tener una longitud entre 300 a 2000 nm y un diámetro que varía entre 5 a 100 nm (Liu et al., 2020; Radakisnin et al., 2020).

Los procedimientos comúnmente utilizados para la producción de nanofibras consisten en tratar el material celulósico con hidrólisis ácida bajo condiciones controladas de temperatura, agitación y tiempo (Wang y Sain, 2007), lo que puede contribuir a un aumento en el impacto ambiental si no

existe un manejo adecuado para el residuo químico utilizado (Boujemaoui et al., 2015). En este sentido, una alternativa promisorio es el uso de la hidrólisis alcalina o los líquidos iónicos (LIs), siendo estos últimos considerados una nueva generación de compuestos químicos, con alta especificidad en la disolución de celulosa amorfa, permitiendo su reutilización en el proceso y minimizando los impactos ambientales (Meneses et al., 2020).

Además de los tratamientos químicos, también es posible realizar la despolimerización de la biomasa vegetal a partir de hidrólisis biológica por vía enzimática (Bondancia, 2022; Pirich, 2020; Horn, 2012). Existen una gran variedad de enzimas producidas por microorganismos, como las ligninasas y celulasas (endoglucanasas), que pueden facilitar el acceso a la celulosa y su degradación parcial, despolimerizando sus componentes amorfos y manteniendo la estructura cristalina (Lakhundi et al., 2015; Boujemaoui et al., 2015; Abhijit et al., 2017).

Las nanofibras de celulosa están formadas por dominios cristalinos conocidos como nanocristales, los cuales se han utilizado en la ciencia de polímeros y materiales como refuerzo mecánico en los campos de electrónica, alimentos, textiles, médicos, farmacéuticos y biosensores (Tan et al., 2015; Dufresne, 2017; Trache et al., 2020). Entre las principales aplicaciones en la ciencia de los polímeros, las membranas biodegradables surgen como una alternativa prometedor en la industria de empaques alimenticios y el sector agrícola, ya que pueden ser utilizadas para aumentar la conservación de los alimentos (Hoy-Fang et al., 2020). Además, este tipo de biomembrana también se puede aplicar en la administración de fármacos (Bakrudeen et al., 2016).

Considerando la aplicación industrial, las nanofibras de celulosa se han utilizado como un aditivo en la elaboración de membranas poliméricas, como el almidón (Menezes et al., 2021), acetato de celulosa (Petersson et al., 2009), proteína de soja (Wang et al., 2006), quitosano (Urbina et al., 2018), entre otros. Se ha demostrado que las nanofibras pueden mejorar las propiedades mecánicas de las membranas, factor limitante para la mayoría de las aplicaciones industriales (Tan et al., 2015; Soni et al., 2020). Diversos estudios han determinado que las membranas poliméricas elaboradas con nanofibras poseen mejores propiedades mecánicas en comparación con membranas a base de polímeros de matriz natural con micro y

macrocompuestos o con adición de compuestos sintéticos, que tienen un alto costo de producción (Brinchi et al., 2012).

En este contexto, este capítulo describe algunos de los tratamientos y técnicas de caracterización utilizados por el Laboratorio Nacional de Nanotecnología de Costa Rica para la obtención de nanocelulosa a partir de residuos agroindustriales, como piña y naranja.

Además, se presentan algunas experiencias de trabajo con este nanomaterial mediante aplicaciones en diferentes áreas; su utilización como parte de diferentes ensamblajes moleculares o modificada (funcionalizada) para diversos fines en el área de medicina, alimentos, agricultura. Además, se presenta una investigación relativa al uso de la nanocelulosa como aditivo en mezclas para materiales de construcción y como material de refuerzo en la formulación de microcápsulas de alginato. Dichas aplicaciones se han podido llevar a cabo gracias a proyectos nacionales e internacionales financiados (Solís et al., 2019; Corrales et al., 2018; Camacho et al., 2017) así como por las diversas colaboraciones internacionales (Lecot et al., 2021). Asimismo, se describe un estudio de factibilidad en el cual se realizó la evaluación de la viabilidad de producción de nanocelulosa a escala industrial y se describen algunos usos de subproductos obtenidos a partir del proceso de producción de nanocelulosa, como el uso de la sílice biogénica como materia prima para la generación de un recubrimiento antimicrobiano.

Residuos lignocelulósicos

La biomasa lignocelulósica de residuos agrícolas y forestales representa un recurso renovable, abundante y económico para la producción de combustibles y productos químicos (Ali et al., 2020; Bilal et al., 2021). Estos residuos tienen una estructura compleja que consta de tres componentes poliméricos principales, hemicelulosa, celulosa y lignina (Figura 1) (Shurong et al., 2017; Menezes et al., 2017).

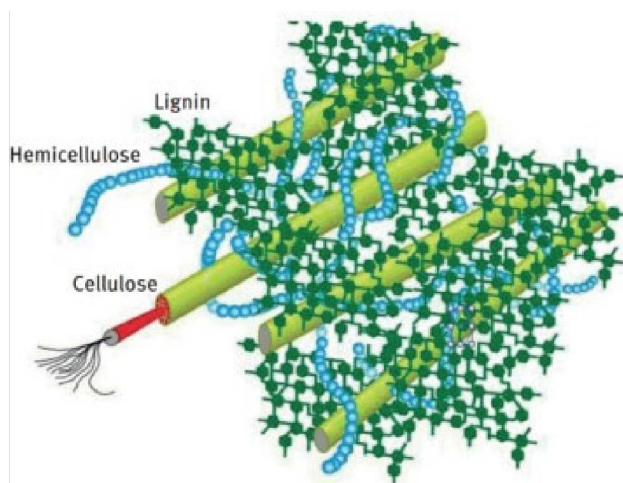


Figura 1. Representación de los componentes estructurales de la biomasa lignocelulósica. Adaptado de Shurong et al., 2017.

La lignocelulosa es el componente predominante de las plantas leñosas y la materia orgánica vegetal, además, de que constituye la biomasa más abundante del planeta (Barakat et al., 2014; Suryadi et al., 2022). A escala mundial, se estima que cada año se desechan 1.300 billones de toneladas de residuos lignocelulósicos de origen agroindustrial (Chiu y Lo, 2016; Ravindran et al., 2018). Ante esto, estos residuos se han sido más utilizados en varios procesos, entre los que podemos incluir la conversión y fragmentación de este material como fuente para la obtención de productos como las nanofibras de celulosa (Zhou et al., 2013; Shruthy y Preetha, 2019).

Entre los componentes de la biomasa vegetal, la celulosa es el componente principal de la pared celular de plantas y algas, es un polímero de glucosa con enlaces glucosídicos β -1,4, y es considerado el carbohidrato más abundante en la naturaleza (Figura 2), constituyendo cerca del 30-50 % del peso seco de la materia lignocelulósica (Bhawana, 2019; Suryadi et al., 2022). Por estas características, este tema ha atraído el interés de los investigadores para su uso en el desarrollo de fuentes de energía renovables (Krogell et al., 2013; Liang et al., 2020).

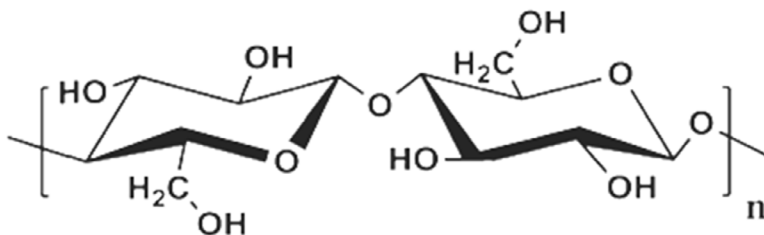


Figura 2. Estructura representativa de la polimerización de celulosa a partir de enlaces glucosídicos β -1,4. Adaptado de Peng et al. (2016).

Estructuralmente, la celulosa se compone de microfibrillas altamente cristalizadas entre matrices amorfas, lo que dificulta que las enzimas realicen la hidrólisis. Para utilizar la celulosa como fuente de nutrientes, es necesaria su despolimerización a través de métodos que promuevan la escisión de los enlaces glucosídicos β -1,4, liberando unidades de glucosa (Liu y Cao, 2013; Kassaye et al., 2022).

Tratamientos de la biomasa

Considerando la alta disponibilidad, el poder de conversión y la viabilidad económica, se han desarrollado varios procesos biotecnológicos para aprovechar los residuos lignocelulósicos para la producción de diferentes productos como alcohol, enzimas, ácidos orgánicos, nanofibras y nanocristales de celulosa. Para que esto sea viable, estos residuos deben pasar por una etapa que permita el fraccionamiento de sus componentes (celulosa, hemicelulosa y lignina), lo que permitiría su uso de manera más eficiente (Phitsuwan et al., 2013; Azelee et al., 2014).

Los procesos de tratamiento de materiales lignocelulósicos pueden implicar el uso de disolventes orgánicos (acetona, butanol, tolueno, diclorometano) y ácidos minerales (HCl, H_2SO_4), que forman nuevos residuos corrosivos y que pueden suponer un riesgo potencial para la salud humana (Yi et al., 2013; Lee et al., 2014). De esta forma, los pretratamientos a base de reactivos alcalinos y líquidos iónicos pueden ser una alternativa eficiente para promover la hidrólisis de los componentes de la materia lignocelulósica (Merino y Cherry, 2007; Kumar et al., 2009; Boujemaoui et al., 2015).

Tratamientos químicos

La hidrólisis ácida es el método más utilizado para extraer nanofibras de celulosa de diversos recursos vegetales. Sin embargo, con este tratamiento químico se genera una gran cantidad de desechos después del proceso, lo que puede causar daños potenciales al medioambiente y la salud humana (Satyamurthy y Vigneshwaran, 2013; Batista et al., 2020).

La nanocelulosa obtenida por hidrólisis con ácido sulfúrico se degrada a temperaturas más bajas que su fibra original. Esto se debe a que la incorporación de grupos sulfato en la superficie de la celulosa después de la hidrólisis ácida ejerce un efecto catalítico sobre las reacciones de degradación térmica de las cadenas de celulosa, debido a las reacciones de deshidratación. Otro efecto que se presenta es el reemplazo de los grupos OH de la celulosa por grupos sulfato, lo que conduce a una disminución de la energía de activación para la degradación de las cadenas de celulosa (Roman y Winter, 2004; Cheng et al., 2011; Benini et al., 2017).

Como alternativa al uso de ácidos como agente de despolimerización, la extracción alcalina puede ser efectiva para la remoción de hemicelulosa, ya que este tipo de tratamiento promueve la desestructuración de los enlaces de hidrógeno intermoleculares entre la celulosa y la hemicelulosa y la escisión total o parcial de los enlaces éster en la pared celular, dando como resultado la disolución de la hemicelulosa y la desorganización de la cadena celulósica (Huang et al., 2021; Schmitz et al., 2021). Sin embargo, como esta separación no es integral, es necesario utilizar un tratamiento adyacente para eliminar componentes distintos a la celulosa (Ayoub et al., 2013; Zhang et al., 2013; Lu et al., 2021).

Todavía dentro de las alternativas de tratamientos químicos, los líquidos iónicos (LI) se han mostrado muy prometedores para el tratamiento de residuos lignocelulósicos, especialmente aquellos en los que al menos un ión (catión) es orgánico y cuyos puntos de fusión son inferiores o no muy por encima de la temperatura ambiente, lo que favorecería su uso industrial al reducir los costos energéticos (Seoud et al., 2007; Amini et al., 2021). Los LI se designan como solventes “verdes”, ya que tienen una presión de vapor extremadamente baja, no son inflamables y son térmica y químicamente estables, lo que permite el reciclaje del solvente durante

el proceso del tratamiento. Estos compuestos iónicos también tienen la capacidad de separar la materia orgánica e inorgánica, así como afectar la miscibilidad en agua y solventes inorgánicos, favoreciendo su uso para el tratamiento de la biomasa (Seoud et al., 2007; Yoo et al., 2017).

Los LIs tienen propiedades físicas y químicas que pueden ser controladas por la combinación de cationes y aniones que los componen, favoreciendo así los enlaces entre las moléculas de los ILs y el residuo a tratar. Además, es posible destacar que cuanto menos lipofílico es un líquido iónico, más eficiente es su desempeño la disolución de la celulosa (Boujemaoui et al., 2015; Liu et al., 2021).

El mecanismo de despolimerización del material lignocelulósico por los líquidos iónicos involucra a los átomos de hidroxilo de celulosa que forman un sistema donador/aceptor de electrones, que interactúa con los LI. Dentro de este sistema, los átomos de oxígeno actúan como donantes de electrones, mientras que el hidrógeno actúa como aceptor. De esta manera, los iones libres de los LI se asocian con los protones hidroxilo de la celulosa, mientras que los cationes forman un complejo con el oxígeno hidroxilo, interrumpiendo así el enlace de hidrógeno en la celulosa y promoviendo su fragmentación (Cao et al., 2009; Reddy y Yang, 2015). Además, es posible destacar que los LI basados en el catión imidazolio pueden contribuir a la disolución de la celulosa, debido a su relativa acidez y capacidad de asociarse con el oxígeno de los grupos OH de la celulosa (Fei et al., 2007; Dissanayake et al., 2018).

Además de los tratamientos químicos, se pueden utilizar tratamientos biológicos, que son bastante eficientes en la separación de los componentes de la biomasa lignocelulósica cuando se realizan en condiciones ideales de temperatura, pH y disponibilidad de nutrientes.

Tratamientos biológicos

Considerando el papel de los hongos en el proceso de degradación enzimática de la materia orgánica, estos pueden ser utilizados en el proceso de degradación parcial de residuos lignocelulósicos (Andlar et al., 2018) (despolimerización de los monómeros constituyentes), con el objetivo de obtener nanofibras de celulosa.

Según el tipo de degradación de los materiales lignocelulósicos, los hongos se clasifican en degradación leve, degradación parda y degradación blanca (basidiomicetos). Aquellos con degradación leve pertenecen a los grupos Deuteromycetes y Ascomycetes, los cuales tienen la capacidad de hidrolizar polisacáridos, pero pierden rendimiento cuando se usan para la degradación de lignina. Los hongos de degradación pardos o marrones (familias Polyporaceae e Hymenochaetaceae) son excelentes descomponedores de celulosa y hemicelulosa, mientras que los hongos de degradación blancos están adaptados para la degradación de la lignina (Aguiar y Ferraz, 2012; Taylor et al., 2015).

La degradación parcial del material lignocelulósico por los hongos de la pudrición blanca se atribuye respectivamente a tres enzimas, dos glicoproteínas, la lignina peroxidasa (LiP) y manganeso peroxidasa (MnP) y una fenoloxidasa extracelular, la lacasa (Lac), las cuales son responsables del inicio de la despolimerización de la lignina (Chowdhary et al., 2019; Kumar et al., 2020). Esta degradación probablemente se deba a la alta actividad oxidativa y la baja especificidad de las enzimas ligninolíticas en relación con el sustrato. Por lo tanto, los hongos de pudrición blanca y sus enzimas son útiles no solo en algunos procesos industriales como biopulping y biocarga, sino también en la biorremediación (Raveendran et al., 2016; Krumova et al., 2018).

El proceso de degradación del residuo lignocelulósico parte de su hidrólisis proporcionada por la lignina peroxidasa y manganeso peroxidasa, enzimas secretadas por los hongos en respuesta a la limitación de nutrientes durante su metabolismo secundario. Este proceso ocurre a través de reacciones mediadas, que ocurren por la sustracción de un electrón del núcleo aromático de la lignina, para formar radicales catiónicos inestables y, en consecuencia, se forman productos de reacciones no enzimáticas y radicales catiónicos como el agua y otros nucleófilos (Cong et al., 2013).

Otra enzima producida por los hongos durante la degradación de los materiales lignocelulósicos es la lacasa, que actúa en la captura de electrones de las cadenas fenólicas, debido a la reducción del ion Cu^{2+} en el Cu^+ , reduciendo el O_2 a H_2O y permitiendo que la enzima actúe de forma cíclica. Sin embargo, estas enzimas también pueden degradar estructuras no fenólicas mediante la oxidación de algunos mediadores como los iones

Mn²⁺ (Aguiar y Ferraz, 2011). Según Zhao et al. (2012), la cooperación entre las enzimas ligninolíticas en el proceso de degradación biológica de la lignina y la celulosa parcial se da en función de la proporción de la actividad de estas enzimas, factor que incide en la tasa de degradación de los residuos.

Kuwahara (1984) fue el primero en describir la peroxidasa como dependiente del manganeso para el mantenimiento del ciclo catalítico. Esta peroxidasa requiere peróxido de hidrógeno como cosustrato, actuando como catalizador en la oxidación de Mn²⁺ a Mn³⁺. El ion Mn³⁺ unido con un ácido orgánico actúa como agente primario en la hidrólisis de la lignina. Por lo tanto, la MnP se considera una enzima clave en el proceso de deslignificación por hongos de la pudrición blanca (Saparrat et al., 2002; Jović et al., 2022).

Aunque los hongos de la pudrición blanca son eficientes en el inicio de la despolimerización de la materia lignocelulósica, aún pueden considerarse inespecíficos en lo que respecta a la degradación de la celulosa. Para ello, es posible hacer uso de cepas productoras de enzimas celulolíticas o realizar un consorcio entre estos dos grupos de microorganismos (Behera et al., 2016).

Además de las enzimas celulolíticas, la hidrólisis de la celulosa puede estar directamente relacionada a su separación de la hemicelulosa, que a su vez permite el enlace entre las cadenas de celulosa. La despolimerización de la hemicelulosa requiere un conjunto complejo de enzimas extracelulares como las celulasas, debido a su estructura de heteropolisacárido ramificado. Algunas de las enzimas que se pueden utilizar en este proceso son: b-1,4-endoxilanasas (1,4-b-D-xilana xilohidrolasa - EC 3.2.1.8); b-D-xilosidasas (b-D-xilosido xilohidrolasa - EC 3.2.1.37); acetilxilanoesterasa (EC 3.1.1.6); arabinasa (EC 3.2.1.99); a-glucuronidasa (EC 3.2.1.-); ácido ferúlico esterasa (EC 3.1.1.-) (Crepin et al., 2004; Caufrier et al., 2003; Kulkarni et al., 1999; Kurakabe, 1997).

Tras los procesos de tratamiento, ya sea químico o biológico, las fibras lignocelulósicas se despolimerizan, permitiendo el aprovechamiento de sus fracciones de forma específica, ya sea para la producción de combustibles a partir de la fermentación de los sacáridos presentes en el residuo (Pasin et al., 2020), para la producción de disolventes (Luxin et al., 2017) y

edulcorantes (Moraes et al., 2020) así como para la inducción de la síntesis enzimática (Menezes et al., 2017) y la extracción de nanofibras de celulosa (Yu et al., 2021).

Síntesis biológicas directa

El desarrollo de metodologías para la producción y aplicación de materiales biodegradables ha crecido en los últimos años con el objetivo de desarrollar procesos más eficientes que los convencionales, además de asegurar la preservación del medioambiente con base en el concepto de bioeconomía. Teniendo en cuenta los materiales biodegradables, la celulosa bacteriana (CB), considerada un polímero de carbohidratos de fácil obtención y con potencial de aplicación en varias áreas, ha ido ganando protagonismo (Selorm y Sukyai, 2020; Choi et al., 2022).

La CB tiene la misma fórmula química que la celulosa vegetal, formando parte del grupo de los hidratos de carbono. Además, la celulosa de origen bacteriano también está formada por subunidades de celobiosa unidas por enlaces β -1,4-glucosídicos (Portela et al., 2019). En general, la producción de CB, en comparación con la celulosa vegetal, es más eficiente, económica y ecológicamente sostenible, ya que representa una reducción del impacto ambiental al eliminar la producción de residuos secundarios, generados a través de los reactivos químicos utilizados en la despolimerización del material lignocelulósico (Maiuolo et al., 2021). Además, la CB no está unida a otras subunidades (hemicelulosa y lignina) y extractos de materiales lignocelulósicos, por lo que puede considerarse químicamente pura (Reiniati et al., 2017, Portela et al., 2019).

Por sus características, CB es un producto con alta aplicabilidad industrial. Mientras que las fibras de celulosa vegetal tienen dimensiones macrométricas, que requieren procesos de reducción, las fibras CB tienen un carácter nanométrico (Stanislawski, 2016; Dórame-Miranda et al., 2018) lo que les confiere propiedades interesantes, como cristalinidad, alta resistencia mecánica, alta capacidad de retención de agua, bajo grado de polimerización y biocompatibilidad (Gorgieva y Trček, 2019).

La celulosa bacteriana puede ser biosintetizada por varias especies de bacterias (Figura 3) pertenecientes a los géneros: *Acetobacter*, *Achromo-*

bacter, Aerobacter, Agrobacterium, Alcaligenes, Azotobacter, Escherichia, Komagataeibacter y Gluconacetobacter (Choi y Shin, 2020), Pseudomonas, Rhizobium y Sarcina (Zhong, 2020; Lahiri et al., 2021). Luego del primer estudio documentado sobre la producción de CB reportado por Brown (1886), se realizaron otras investigaciones, buscando identificar especies con gran potencial productivo, entre ellas las bacterias del género Komagataeibacter, formadas en gran parte por bacterias que antes pertenecían al género Gluconacetobacter, que tienen una alta eficiencia de producción de nanocelulosa, además son fácilmente inducibles a partir de diferentes fuentes complejas de carbono y nitrógeno, como los residuos lignocelulósicos (Yamada et al., 2012; Singhania et al., 2021).

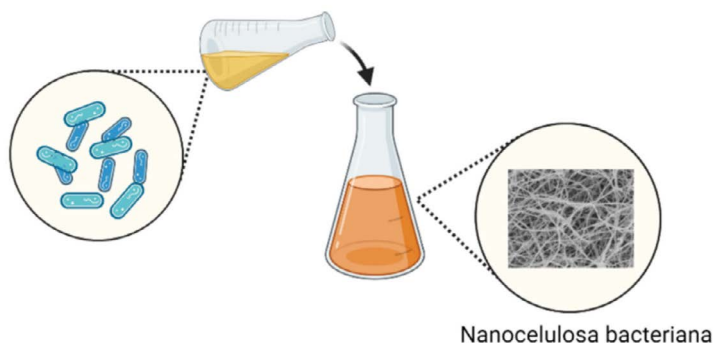


Figura 3. Síntesis de nanocelulosa bacteriana. Creado con BioRender.com.

Celulosa microcristalina y nanocristalina

Actualmente, se están estudiando varios tipos de partículas de celulosa para numerosas aplicaciones comerciales. La celulosa microcristalina (CM) es un material comercialmente disponible que se utiliza para aplicaciones en la industria farmacéutica y alimentaria y también como material de partida para preparar celulosa nanocristalina (CN) (Klemm et al., 2011; Gupta et al., 2019).

La CM tiene dimensiones alrededor de 10-50 μM , mientras que la celulosa nanocristalina (CN) generalmente se refiere a materiales celulósicos con anchos y largos de 5-70 nm y entre 100 nm y varios micrómetros,

respectivamente. Según sus dimensiones, funciones y métodos de preparación, estas nanoestructuras se pueden clasificar en tres subcategorías principales: nanocelulosa (CN), celulosa microfibrilar (CMF), y nanocelulosa bacteriana (NCB) (Klemm et al., 2011; Su et al., 2018).

Además de la diferencia de tamaño, los tres tipos de nanoestructuras mencionadas anteriormente difieren en la flexibilidad. Teniendo la CN del tipo nanofibrilar un carácter más flexible porque tiene dominios cristalinos y amorfos alternados en su composición, mientras que la CMC tiene varillas rígidas con partículas 100 % de celulosa y altamente cristalino (Klemm et al., 2011). En general, la amplia variedad de morfologías, dimensiones y grado de cristalinidad de las nanofibras está directamente influenciada por la fuente del material celulósico, las condiciones de preparación y la técnica experimental utilizada (Habibi et al., 2010; Trache et al., 2020).

En las últimas décadas, numerosos estudios han demostrado que las nanofibras de celulosa (NFC) y nanocristales de celulosa (CNC) pueden incorporarse en una amplia gama de matrices poliméricas, incluidas las sintéticas y naturales (como almidón, PLA y quitosano), para la producción de nanocompositos con el objetivo de mejorar las propiedades mecánicas y de barrera (Siqueira et al., 2010; Duran et al., 2012; Zhang et al., 2021).

Además de dar refuerzo mecánico a los polímeros, la NFC y la CNC tienen otras aplicaciones, como un uso potencial en la elaboración de espumas, aerogeles (Eichhorn et al., 2010; Lavoine et al., 2017), y membranas de permeabilidad selectiva para diálisis (Li et al., 2011; Jorfi y Foster, 2014). Asimismo, pueden ser utilizados en la síntesis o mejora de materiales adhesivos (Kajtna y Šebenik, 2017), baterías de litio, soportes para inmovilización enzimática o híbridos de celulosa y metales nobles para su aplicación como biosensores (Samir et al., 2006; Velusamy et al., 2017), entre otros.

Aplicaciones recientes de la nanocelulosa desarrolladas en el Laboratorio Nacional de Nanotecnología LANOTEC CENAT

Adición de nanocelulosa en mezclas para materiales de construcción

El concreto convencional, sin refuerzo, es un material que se caracteriza por tener una alta resistencia a la compresión y es uno de los compuestos más versátiles en la construcción. Sin embargo, existe la necesidad de modificar algunas de sus propiedades, tales como la resistencia a la tracción, la dureza, y la durabilidad para aplicaciones más específicas. Actualmente, esta y otras deficiencias pueden ser superadas por medio del uso de un refuerzo convencional y, en cierta medida, por la inclusión de fibras. Las fibras naturales pueden constituir una posibilidad de uso para modificar las propiedades del concreto, ya que están disponibles en grandes cantidades, representan una fuente renovable continua y por lo tanto constituyen un material alternativo para reforzar y mejorar las propiedades físicas y mecánicas del concreto (Paricaguán et al., 2019).

Como parte del trabajo del Laboratorio Nacional de Nanotecnología en el área de biorrefinería, se realizó un estudio de evaluación del efecto de la adición de nanocelulosa obtenida a partir del rastrojo de piña en mezclas para materiales de construcción. En esta investigación se evaluaron las posibles variaciones en las propiedades de resistencia a tensión, compresión y trabajabilidad de mezclas de mortero de cemento hidráulico adicionadas con distintos porcentajes de nanocelulosa.

Las fibras se caracterizaron mediante Termogravimetría (TGA), Espectroscopia Infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR), Microscopia Electrónica de Barrido (SEM) y análisis de humedad. Luego, fueron sometidas a tratamientos químicos para producir dos aditivos a base de nanocelulosa: nanocelulosa aislada (NC) y nanocelulosa con microsílca (SC). Se realizaron mezclas con cuatro porcentajes de adición de nanocelulosa, además de la mezcla patrón (0 %). Los porcentajes en estado acuoso respecto al peso del cemento para cada aditivo obtenido fueron de 0,125 %, 0,25 %, 0,50 %, y 1 %. Con respecto a los resultados obtenidos,

en todas las mezclas se obtuvo una reducción porcentual en la relación agua/cemento en comparación a la mezcla patrón. Las reducciones porcentuales fueron mayores para las adiciones del sustrato completo (SC) en comparación con las de la NC. Así mismo, en todas las mezclas, se obtuvieron valores de resistencia a la tensión (Figura 4) y a la compresión mayores a la mezcla patrón. Adicionalmente, todos los promedios de resistencia a la tensión y de resistencia a la compresión obtenidos en las mezclas con adición de la NC presentaron resultados superiores a las mezclas con adición del sustrato completo (Solís et al., 2019).

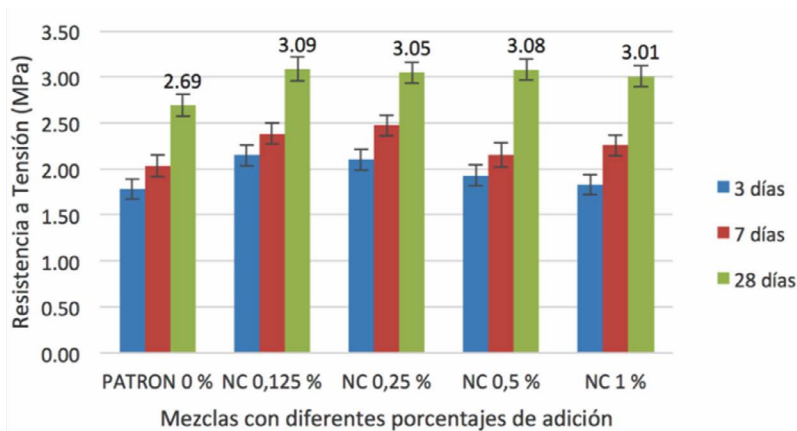


Figura 4. Resistencia a tensión en mezclas cementicias con adición de nanocelulosa (NC)
Fuente: Solís, E. Tesis de Licenciatura, Ingeniería Civil, Universidad de Costa Rica.

*Microcápsulas de alginato reforzadas con nanocelulosa para la encapsulación de conidios de *Trichoderma longibrachiatum**

Trichoderma es un género de hongo saprófito, muy utilizado para el control de plagas en plantas debido a su capacidad de producir enzimas y metabolitos secundarios para el control de los fitopatógenos (Degani et al., 2021; Nuangmek et al., 2021). Sin embargo, se ha determinado que las formulaciones comerciales que actualmente existen y que no involucran encapsulamiento, tienen el inconveniente de que disminuyen la viabilidad del hongo. Es debido a esto, es que en los últimos años se han incrementa-

do las investigaciones relativas a la protección de las esporas de *Trichoderma* en contra del estrés biótico y abiótico, y de esta forma aumentar la viabilidad del hongo y por ende el tiempo de almacenamiento de *Trichoderma*. Una de estas estrategias de protección es a través de la microencapsulación (Maruyama et al., 2020; Peil et al., 2020).

La microencapsulación constituye una estrategia fundamental para la protección y liberación controlada de biomoléculas y microorganismos (Maruyama et al., 2020; Bennacef et al., 2021). Diversos polímeros naturales se han utilizado para la síntesis de microcápsulas, entre ellos los polisacáridos y las proteínas, son los más utilizados actualmente (Ngwuluka et al., 2020; Maleki et al., 2020).

Recientemente, en el LANOTEC se está desarrollando una línea de investigación relacionada al desarrollo de microcápsulas de alginato utilizando el método de emulsión agua en aceite (W/O) y se está evaluando la incorporación de diferentes concentraciones de quitosano (0,25, 0,5 y 1 %) como material de recubrimiento a la formulación de alginato, y la adición de tres concentraciones de nanocelulosa proveniente de fibras de algodón (0,25, 0,5 y 1 %) como agente de refuerzo mecánico (Figura 5). Las microcápsulas se han caracterizado mediante técnicas como la espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIR), Análisis termogravimétrico (TGA), Calorimetría de barrido diferencial (DSC) y Microscopio electrónico de barrido (SEM), con resultados promisorios. Además, en conjunto con la Universidad Nacional de Costa Rica, estas micropartículas se están utilizando para la encapsulación de conidios del hongo *Trichoderma longibrachiatum*, con el fin de evaluar su viabilidad bajo diferentes condiciones de temperatura y tiempos de almacenamiento, además, de que se están desarrollando pruebas de antagonismo in vitro para el control de *Fusarium oxysporum*.

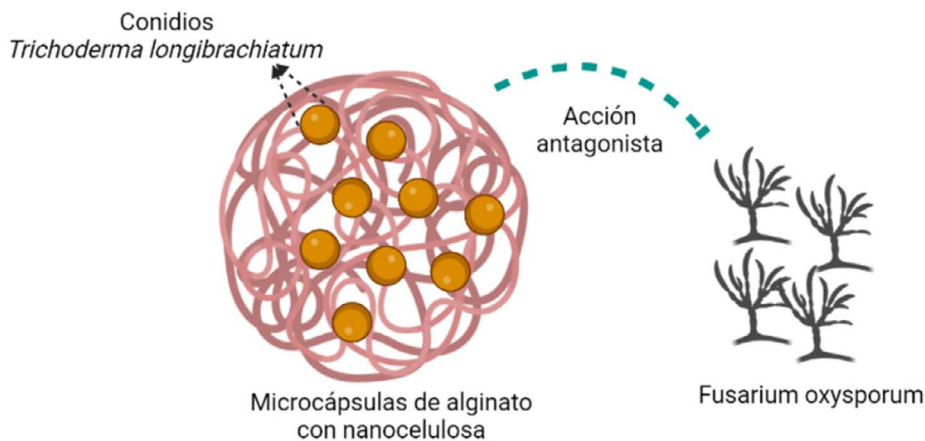


Figura 5: Microencapsulación de conidios de *Trichoderma longibrachiatum* y su acción antagonista para el control de *Fusarium oxysporum*. Creado con BioRender.com

Funcionalización de nanocelulosa para la inmovilización de radiofármacos para diagnóstico de cáncer

La nanocelulosa se presenta como un material muy prometedor para diversos fines, y particularmente se muestra muy rentable para aplicaciones en biomedicina por ser un material biocompatible, biodegradable y no tóxico (Lecot, 2021; Patil, 2022; Curvello, 2019). Asimismo, los derivados del ácido hidrazinonicotínico (HYNIC) han sido utilizados como agentes de coordinación para su unión a ^{99m}Tc en el desarrollo de radiofármacos (Liu, 2005; Anzola, 2019). Para ello, el LANOTEC en conjunto con el laboratorio de Técnicas Nucleares Aplicadas a la Bioquímica y Biotecnología (Uruguay), estudiamos y desarrollamos NC-HYNIC- ^{99m}Tc para el diagnóstico por imagen, utilizando NC obtenida de cascara de arroz, *Trichoderma reesei* y *Phanaerochaete chrysosporium* en un sistema de semifermentación sólida para generar un potencial agente nanoradiofarmacéutico.

En este trabajo, se realizó la separación de nanosílice, microcelulosa y nanocelulosa utilizando la técnica TAPPI T203 os-74 (Lopretti, 1990; Lopretti, 2017). Luego la síntesis del conjugado NC-HYNIC se realizó siguiendo un procedimiento de un solo paso. El conjugado NC-HYNIC

se caracterizó por espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR), análisis termogravimétrico (TGA), microscopía electrónica de barrido (SEM) y microscopía de fuerza atómica (AFM). A partir de estas técnicas se caracterizó la NC, presentando una estructura de nanofibras de tipo laminar. El rendimiento de NC fue del 55 %, y el conjugado NC-HYNIC de un 36 %. Los análisis de TGA y FTIR mostraron que la NC funcionalizada con HYNIC tenían características similares a las de NC. Además, el análisis AFM de la NC funcionalizada mostró una altura promedio de 8 ± 3 nm, mientras que la NC mostró una altura promedio de 10 ± 4 nm.

Posteriormente, se estudió la unión a ^{99m}Tc , y la pureza del producto radiomarcado por cromatografía ITLC. El proceso de radiomarcaje fue muy eficiente con una pureza radioquímica de $98 \pm 1,2$ %, lo cual muestra la posibilidad de un potencial agente de imagen para diagnóstico oncológico.

Nanocelulosa como refuerzo en membranas poliméricas

El procedimiento químico más utilizado para la producción de nanocelulosa es la hidrólisis ácida. Sin embargo, este tipo de tratamiento puede generar impacto ambiental y aún ofrece baja posibilidad de reutilización (Boujemaoui et al., 2015). Como alternativa es posible realizar la hidrólisis usando líquidos iónicos (LI), que son menos agresivos para el medioambiente, presentan baja presión de vapor, no son inflamables y son térmica y químicamente estables, lo que permite su reciclaje durante el proceso de tratamiento (Elgharbawy et al., 2016; Zhang et al., 2017).

Las nanofibras de celulosa tienen potencial de aplicación en el campo de los polímeros y materiales, biosensores y refuerzo mecánico. Este potencial hace que las nanofibras sean promisorias para su aplicación en membranas biodegradables en la industria del embalaje (Mateo et al., 2021; Menezes et al., 2021). De esta forma, se desarrolló una propuesta para la obtención de nanofibras de celulosa a partir del tratamiento biomasa lignocelulósicas por LI, para posterior incorporación en membranas poliméricas con el objetivo de mejorar sus propiedades mecánicas.

El tratamiento químico se realizó mediante hidrólisis con líquidos iónicos (Metilimidazolio, THTDP (Br) y THTDP (CH_3SO_3)). Todas las muestras tratadas fueron caracterizadas a través de ensayos térmicos, morfológicos, estructurales y mecánicos, para confirmar la extracción y características de la nanocelulosa obtenida, que luego se aplicó en la producción de nanocompositos (membranas). Para la obtención de la membrana se preparó una suspensión compuesta por almidón soluble, glicerol (plastificante) y agua. Posteriormente, la mezcla se sometió a condiciones controladas de calentamiento, agitación y tiempo. Luego, se agregó a la mezcla un porcentaje de una solución de nanofibras de celulosa.

A partir de los resultados de rendimiento de extracción, se pudo confirmar la eficiencia de este tratamiento, especialmente para los LI con imidazolio, lo que también fue confirmado por análisis de microscopía SEM y AFM, que permitió observar una mayor concentración y homogeneidad de fibras en este tratamiento (Figura 6). Además, se pudo verificar que luego del proceso de incorporación de las nanofibras de celulosa en las membranas de almidón, hubo un aumento en la resistencia mecánica, comprobado por la mejora de los parámetros de la prueba de tracción (tiempo de elongación, fuerza de tracción y módulo de elasticidad).

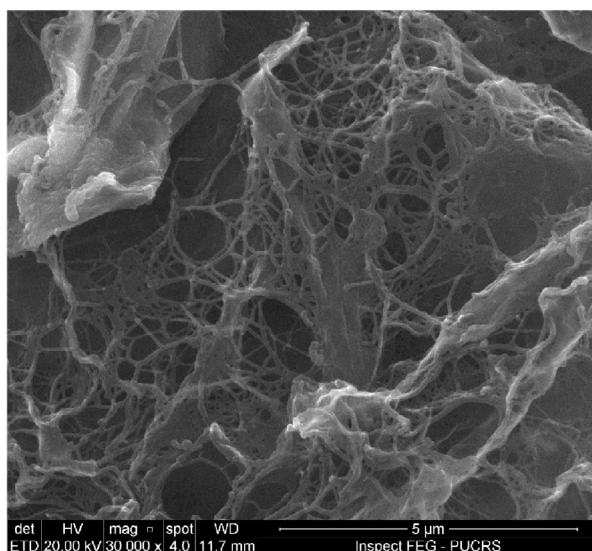


Figura 6: Nanofibras de celulosa extraídas a partir del tratamiento con el líquido iónico metilimidazolio

Evaluación de la viabilidad de producción de nanocelulosa

El Laboratorio Nacional de Nanotecnología, inició el desarrollo de sus investigaciones en la obtención y aprovechamiento de nanocelulosa enfatizando en los últimos años en los residuos de la industria de la piña. Sin embargo, en Costa Rica, la información sobre estudios que permitan determinar una evaluación de viabilidad para la obtención de nanocelulosa son escasos. Por lo cual el LANOTEC elaboró un estudio de factibilidad dividido en: estudio de mercado, estudio técnico, evaluación ambiental y un estudio económico, que logró generar información sobre la producción de este nanomaterial a escala industrial.

En el estudio de mercado, los análisis de demanda, oferta y precios, se realizaron mediante entrevistas y envío de correos electrónicos a expertos nacionales e internacionales. También se utilizó información estadística de instituciones costarricenses y referencias bibliográficas. Con respecto al estudio técnico, el proceso de producción, capacidad de planta y equipos necesarios para el proceso, se verificaron mediante revisión de literatura y estimaciones a partir del estudio de mercado. Además, se utilizó el programa SuperPro Designer para realizar el diagrama de flujo del proceso analizando diferentes eficiencias del método (42 %, 50 % y 95 %). La evaluación ambiental, se desarrolló mediante un análisis descriptivo de los efectos en las actividades que se realizan en el establecimiento y planta de producción, asimismo, se propusieron medidas de mitigación de los efectos con mayor peso sobre el ambiente. Para el estudio económico, toda la información para estimar los costos de producción, costos de administración, costos de ventas y de inversión inicial, se obtuvo del estudio de mercado, del estudio técnico y cotizaciones (Moreno et al., 2019). Los resultados de este estudio mostraron un nivel aceptable de rentabilidad y factibilidad, generando una fuente de información que sea posible utilizar en futuras investigaciones y a la vez, se puedan actualizar y ampliar datos relacionados con el tema.

Subproductos obtenidos del proceso de producción de nanocelulosa

Dentro del proceso químico de producción de nanocelulosa a partir de la biomasa, se pueden obtener otros subproductos, como la microcelulosa, la hemicelulosa, la pectina, la lignina y la sílice. En un estudio previamente publicado por el LANOTEC (Corrales et al., 2018), se encontró sílice biogénica (BSR) en forma de rosetas de 10 μm de longitud y 5 μm de altura en la superficie de la cutícula de la cáscara de piña (Figura 7).

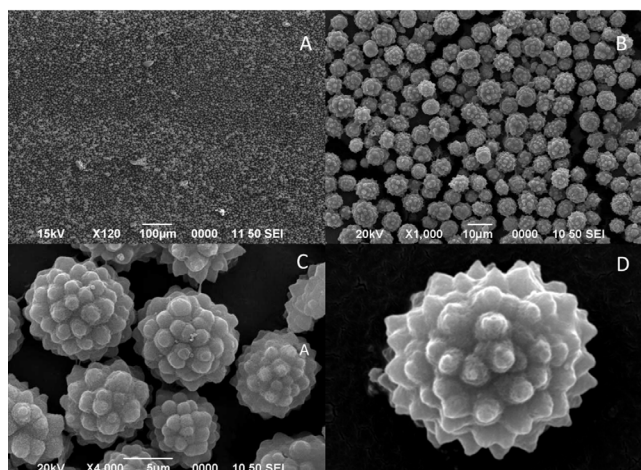


Figura 7. Imágenes en SEM de la sílice biogénica obtenidas como subproducto del proceso de extracción de nanocelulosa

Esta sílice biogénica, formada por gránulos de 300 nm, tienen características interesantes desde el punto de vista industrial ya que mejoran las propiedades mecánicas y la respuesta frente al estrés provocado por el ataque de microorganismos. Con base en esta información previa, recientemente en el LANOTEC se desarrolló una investigación sobre el uso de sílice biogénica proveniente de la cáscara de piña, como materia prima para la generación de películas antiadherentes bacterianas de polidimetilsiloxano (PDMS), y se evaluó la actividad antimicrobiana de la BSR contra *Escherichia coli* y las propiedades antiadhesivas de las películas de BSR en PDMS (Castro-Mora et al., 2022).

El material desarrollado se caracterizó por diversas técnicas, como microscopía electrónica de barrido (SEM), microscopía de fuerza atómica (AFM), espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) y ángulo de contacto con el agua. Con esta investigación, se determinó que la cobertura de alta densidad formada por la sílice biogénica aumentó la rugosidad del PDMS y la repelencia al agua de la superficie y disminuyó la adhesión de la bacteria *Escherichia coli*. Además, se estudió la disrupción de las membranas plasmáticas de las células sanguíneas. Asimismo, en esta investigación se funcionalizó la sílice biogénica con octadeciltrióxido de silicio con el objetivo de aumentar la hidrofobicidad entre los vacíos del BSR y su superficie. Gracias a esta funcionalización, se logró disminuir la adhesión de bacterias.

Este proyecto viene a contribuir en la generación de materiales con actividad antimicrobiana, con el fin de aliviar la aparición de varias cepas multirresistentes que se ha relacionado con el uso extensivo de antibióticos. Además, el recubrimiento desarrollado tiene otros usos potenciales, como servir de plataforma para el encapsulamiento de compuestos activos debido a su alta porosidad, que se podrían estudiar a futuro.

Conclusiones

Globalmente existe una gran necesidad de buscarle un uso adecuado a los residuos agroindustriales, con el fin de contribuir a la disminución de la contaminación ambiental, provocada por el exceso de residuos no utilizados. Estos desechos agroindustriales, se podrían emplear dándoles un valor agregado en diferentes áreas tales como la alimentaria, médica, plásticos, agrofertilizantes, entre otros. La biomasa lignocelulósica proveniente de residuos agroforestales representa un recurso abundante, renovable y económico para la producción de diversos productos comerciales. La nanocelulosa producida a partir de la celulosa, constituye un material de alto valor agregado. Además, su uso ha recibido mucha atención en numerosos sectores industriales debido a sus propiedades mecánicas, térmicas, baja densidad, alta biocompatibilidad y biodegradabilidad. Para la producción de la nanocelulosa se pueden utilizar diversos métodos entre ellos, tratamientos químicos, mecánicos, degradación microbiológica y síntesis biológica directa.

Finalmente, es importante impulsar en la gestión del sector agroindustrial, la implementación de más proyectos en los que se puedan aprovechar los residuos biomásicos, contribuyendo así, en la mejora de las condiciones sociales, económicas y ambientales.

Referencias

- Abhijit, S.; Hirokazu, K.; Atsushi, F. (2017) Chapter Two - Catalytic Conversion of Structural Carbohydrates and Lignin to Chemicals. *Advances in Catalysis*, 60: 59-123. ISSN 0360-0564. doi.org/10.1016/bs.acat.2017.09.002.
- Aguiar, A.; Ferraz, A. (2011). Mechanisms involved in the biodegradation of lignocellulosic materials and related technological applications. *Química Nova*, 34: 1-10. doi: 10.1590/S0100-40422011001000006.
- Aguiar, A.; Ferraz, A. (2011) Mechanisms involved in the biodegradation of lignocellulosic materials and related technological applications. *Química Nova*, 34: 1-10.
- Ahmad Khorairi, A. N. S.; Sofian-Seng, N.S.; Othaman, R.; Abdul Rahman, H.; Mohd Razali, N. S.; Lim, S. J.; Wan Mustapha, W. A. (2021). *A Review on Agro-industrial Waste as Cellulose and Nanocellulose Source and Their Potentials in Food Applications*. Food Reviews International, 1-26.
- Akatan, K.; Kabdrakhmanova, S.; Kuanyshbekov, T. et al. (2022) Highly-efficient isolation of microcrystalline cellulose and nanocellulose from sunflower seed waste via environmentally benign method. *Cellulose* 29, 3787–3802 (2022). <https://doi.org/10.1007/s10570-022-04527-4>.
- Ali, N.; Zhang, Q.; Liu, Z.Y. et al. (2020) Emerging technologies for the pretreatment of lignocellulosic materials for bio-based products. *Appl Microbiol Biotechnol* 104, 455–473. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-10158-w>.
- Amini, E.; Valls, C.; Roncero, M.B. (2021) Ionic liquid-assisted bioconversion of lignocellulosic biomass for the development of value-added products. *Journal of Cleaner Production*, 326: 129275, ISSN 0959-6526. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.129275>.
- Andlar, M.; Rezić, T.; Marđetko, N.; Kracher, D.; Ludwig, R.; Šantek, B. (2018). Lignocellulose degradation: An overview of fungi and fungal

- enzymes involved in lignocellulose degradation. *Engineering in life sciences*, 18(11), 768–778. <https://doi.org/10.1002/elsc.201800039>.
- Anzola, L.K.; Rivera, J.N.; Dierckx, R.A.; Lauri, C.; Valabrega, S.; Galli, F.; Moreno, L.S.; Glaudemans, A.W.J.M.; Signore, A. (2019). Value of Somatostatin Receptor Scintigraphy with ^{99m}Tc -HYNIC-TOC in Patients with Primary Sjögren Syndrome. *J Clin Med*, 8(6):763. doi: 10.3390/jcm8060763. PMID: 31151155; PMCID: PMC6616389.
- Ayoub, A.; Venditti, R. A.; Pawlak, J. J.; Sadeghifar, H.; Salam, A. (2013). Development of an acetylation reaction of switchgrass hemicellulose in ionic liquid without catalyst. *Industrial Crops and Products*, 44: 306-314. doi:10.1016/j.indcrop.2012.10.036.
- Azelee, N. I. W.; Jahim, J. M.; Rabu, A.; Murad, A. M. A.; Bakar, F. D. A.; Illias, R. M. (2014). Efficient removal of lignin with the maintenance of hemicelluloses from kenaf by two-stage pretreatment process. *Carbohydrate Polymers*, 99: 447– 453. doi:10.1016/j.carbpol.2013.08.043.
- Bakrudeen, H. B.; Sudarvizhi, C.; Reddy, B. S. R. (2016). Starch nanocrystals based hydrogel: Construction, characterizations and transdermal application. *Materials science and engineering: C*, 68: 880-889. doi:10.1016/j.msec.2016.07.018.
- Barakat, A.; Chueter, S.; Monlau, F.; Solhy, A.; Rouau, X. (2014). Eco-friendly dry chemo-mechanical pretreatments of lignocellulosic biomass: Impact on energy and yield of the enzymatic hydrolysis. *Applied Energy*, 113: 97–105. doi:10.1016/j.apenergy.2013.07.015.
- Baruah, J.; Nath, B.K.; Sharma, R.; Kumar, S.; Deka, R.C.; Baruah, D.C.; Kalita, E. (2018) Recent Trends in the Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Value-Added Products. *Frontiers in Energy Research 6*: ISSN=2296-598X. Doi:10.3389/fenrg.2018.00141.
- Batista Meneses, D.; Montes de Oca-Vásquez, G.; Vega-Baudrit, J.R. et al. (2020) Pretreatment methods of lignocellulosic wastes into value-added products: recent advances and possibilities. *Biomass Conv. Bioref.* 12, 547–564. doi.org/10.1007/s13399-020-00722-0.
- Behera, B. C.; Sethi, B. K.; Mishra, R. R.; Dutta, S. K., Thatoi, H. N. (2017) Microbial cellulases – Diversity e biotechnology with reference to mangrove environment: *A review. Journal of genetic engineering and biotechnology*, 15: 197-210.

- Benini, K.C.C.C.; Pereira, P.H.F.; Cioffi, M.O.H.; Voorwald, H.J.C. (2017) Effect of acid hydrolysis conditions on the degradation properties of cellulose from *Imperata brasiliensis* fibers. *Procedia Engineering*, 200: 244-251, ISSN 1877-7058. <https://doi.org/10.1016/j.proeng.2017.07.035>.
- Bennacef, C.; Desobry-Banon, S.; Probst, L.; Desobry, S. (2021). Advances on alginate use for spherification to encapsulate biomolecules. *Food Hydrocolloids*, 118, 106782.
- Bhawana Chaurasia. (2019) “Biological pretreatment of lignocellulosic biomass (Water hyacinth) with different fungus for Enzymatic hydrolysis and Bio-ethanol production Resource: Advantages, Future work and Prospects”. *Acta Scientific Agriculture* 3. 5: 89-96.
- Bilal, M.; Vilar, D.S.; Eguiluz, K.I.V.; Ferreira, L.F.R.; Bhatt, P.; Iqbal, H.M.N. (2021). 7 - *Biochemical conversion of lignocellulosic waste into renewable energy*. *Advanced Technology for the Conversion of Waste into Fuels and Chemicals*, Woodhead Publishing, 2021: 147-171, ISBN 9780128231395, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823139-5.00007-1>.
- Boujemaoui, A.; Mongkhontreerat, S.; Malmström, E.; Carlmark, A. (2015). Preparation and characterization of functionalized cellulose nanocrystals. *Carbohydrate Polymers*, 115: 457–464. doi:10.1016/j.carbpol.2014.08.110.
- Brinchi, L.; Cotana F.; Fortunati E.; Kenny J.M. (2012). Production of nanocrystalline cellulose from lignocellulosic biomass: Technology and applications. *Carbohydrate Polymers*, 94: 154– 169. doi:10.1016/j.carbpol.2013.01.033.
- Camacho, M.; Corrales, Y.; Lopretti, M.; Bustamante, L.; Moreno, G.; Alfaro, B.; Vega, J. (2017). Synthesis and Characterization of Nanocrystalline Cellulose Derived from Pineapple Peel Residues” *Journal of Renewable Materials*. *Journal of Renewable Materials*, 5(5), 271-279, doi:10.7569/JRM.2017.634117.
- Cao, Y.; Wu, J.; Zhang, J.; Li, H.; Zhang, Y.; He, J. (2009). Room temperature ionic liquids (RTILs): A new and versatile platform for cellulose processing and derivatization. *Chemical engineering journal*, 147: 13-21. doi:10.1016/j.cej.2008.11.011.

- Castro-Mora, M.; Vásquez-González, M.; Cordero-Guerrero, J.; Benavides-Acevedo, M.; González, J.; López-Brenes, M. J.; Corrales-Ureña, Y. (2022). Bacterial anti-adhesive films of PDMS coated with microstructures of biogenic silica rosettes extracted from pineapple peels residues. *Surfaces and Interfaces*, 30, 101881.
- Caufrier, F.; Martinou, A.; Dupont, C.; Bouriotis, V. (2003) Carbohydrate esterase family 4 enzymes: substrate specificity. *Carbohydrate Research*, 338: 687-692.
- Chen, W.; Yu, H.; Liu, Y.; Hai, Y.; Zhang, M.; Chen, P. (2011). Isolation and characterization of cellulose nanofibers from four plant cellulose fibers using a chemical-ultrasonic process. *Cellulose*, 18: 433–442. doi:10.1007/s10570-011-9497-z.
- Chiu, S. L. H.; Lo, I. M. C. (2016). Reviewing the anaerobic digestion and co-digestion process of food waste from the perspectives on biogas production performance and environmental impacts. *Environ Sci Pollut Res*, 23: 24435-24450. doi:10.1007/s11356-016-7159-2.
- Choi, S. M.; Shin, E. J. (2020). *The Nanofication and Functionalization of Bacterial Cellulose and Its Applications*. *Nanomaterials* (Basel, Switzerland), 10(3), 406. <https://doi.org/10.3390/nano10030406>.
- Choi, S.M.; Kummara, M.r.; Sun, M.Z.; Eun, J.S.; Sung, S.H. (2022). “Bacterial Cellulose and Its Applications” *Polymers* 14, no. 6: 1080. <https://doi.org/10.3390/polym14061080>.
- Chowdhary, P.; More, N.; Yadav, A.; Bharagava, R. (2018). *Ligninolytic Enzymes: An Introduction and Applications in the Food Industry*. 10.1016/B978-0-12-813280-7.00012-8.
- Cong, F.; Diehl, B. G.; Hill, J. L.; Brown, N. R.; Tien, M. (2013). Covalent bond formation between amino acids and lignin: Cross-coupling between proteins and lignin. *Phytochemistry*, 96: 449–456.
- Corrales, Y.; Villalobos, C.; Pereira, R.; Camacho, M.; Estrada, E.; Argüello, O.; Vega, J. (2018). Biogenic silica-based microparticles obtained as a sub-product of the nanocellulose extraction process from pineapple peels. *Scientific Reports*, 8:10417, doi:10.1038/s41598-018-28444-4.
- Crepin, V. F.; Faulds, C. B.; Connerton, I. F. (2004). Functional classification of the microbial feruloyl esterases. *Appl Microbiol Biotechnol*, 63: 647-652.

- Curvello, R.; Singh, R.V.; Garnier, G. (2019). *Engineering nanocellulose hydrogels for biomedical applications*, *Advances in Colloid and Interface Science*, Volume 267, 47-61, <https://doi.org/10.1016/j.cis.2019.03.002>.
- Dahmen, N.; Lewandowski, I.; Zibek, S.; Weidtmann, A. (2018). Integrated lignocellulosic value chains in a growing bioeconomy: Status quo and perspectives. *GCB Bioenergy*, 11: 107-117. Doi:10.1111/gcbb.12586
- Degani, O.; Dor, S; (2021). Trichoderma biological control to protect sensitive maize hybrids against late wilt disease in the field. *Journal of Fungi*, 7(4), 315.
- Devi, A.; Bajar, S.; Havleen, K.; Kothari, R.; Pant, D.; Singh, A. (2022) Lignocellulosic Biomass Valorization for Bioethanol Production: A Circular Bioeconomy Approach. *BioEnergy Research*. 10.1007/s12155-022-10401-9.
- Dissanayake, N.; Thalangamaarachchige, V.D.; Troxell, S.; et al. (2018). Substituent effects on cellulose dissolution in imidazolium-based ionic liquids. *Cellulose* 25, 6887–6900. <https://doi.org/10.1007/s10570-018-2055-1>.
- Dórame-Miranda, R.; Gámez-Meza, N.; Medina-Juárez, L.A.; Brauer, J.; Ovando-Martínez, M.; Lizardi-Mendoza, J. (2018). Bacterial cellulose production by *Gluconacetobacter entanii* using pecan nutshell as carbon source and its chemical functionalization. *Carbohydrate Polymers*. 207. 10.1016/j.carbpol.2018.11.067.
- Dufresne, A. (2017). Cellulose nanomaterial reinforced polymer nanocomposites. *Current opinion in colloid e interface science*, 29: 1-8. doi:10.1016/j.cocis.2017.01.004.
- Duran, N.; Lemes, A. P.; Amedea, B. S. (2012) Review of cellulose nanocrystals patents: Preparation, composites and general applications. *Recent Patents on Nanotechnology*, 6: 16-28.
- Elgharbawy, A. A.; Alam, M. Z.; Moniruzzaman, M.; Goto, M. (2016). Ionic liquid pretreatment as emerging approaches for enhanced enzymatic hydrolysis of lignocellulosic biomass. *Biochemical Engineering Journal*, 109, 252–267. Doi.10.1016/j.bej.2016.01.021.
- Eichhorn, S. J.; Dufresne A.; Aranguren, M.; Marcovich, N. E.; Capadona, J. R.; Rowan, S. J. (2010) Review: Current international research into cellulose nanofibres and nanocomposites. *Journal of Material Science*, 45: 1-33, 2010.

- Gorgieva, S.; Trček, J. (2019). Bacterial Cellulose: Production, Modification and Perspectives in Biomedical Applications. *Nanomaterials* (Basel, Switzerland), 9(10), 1352. <https://doi.org/10.3390/nano9101352>.
- Gupta, P. K.; Raghunath, S. S.; Prasanna, D. V.; Venkat, P.; Shree, V.; Chithanathan, C.; Choudhary, S.; Surender, K.; Geetha, K. (2019). An Update on Overview of Cellulose, Its Structure and Applications. In A. R. Pascual, & M. E. E. Martín (Eds.), *Cellulose*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.84727>.
- Habibi, Y.; Lucia, L. A.; Rojas, O. J. (2010). Cellulose Nanocrystals: Chemistry, SelfAssembly, and Applications. *Chemical Reviews*, 110: 3479-3500.
- Hoi-Fang T.B.S.; Ooi, C.P.L. (2020). Future perspectives of nanocellulose-based membrane for water treatment. *Journal of Water Process Engineering*, 37, 101502, ISSN 2214-7144, doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101502.
- Horn, S.J.; Vaaje-Kolstad, G.; Westereng, B.; et al. (2012) Novel enzymes for the degradation of cellulose. *Biotechnol Biofuels* 5: 45. doi.org/10.1186/1754-6834-5-45.
- Huang, L.Z.; Ma, M.G.; Ji, X.X.; Choi, S.E.; Si, C. (2021). Recent Developments and Applications of Hemicellulose From Wheat Straw: A Review. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 9, 690773. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.690773>.
- Jorfi M.; Foster E. J. (2014). Recente advances in nanocellulose for biomedical applications. *Journal of applied polymer science*, 132: 1-14.
- Jović, J.; Hao, J.; Kocić-Tanackov, S.; et al. (2022). Improvement of lignocellulosic biomass conversion by optimization of fungal ligninolytic enzyme activity and molasses stillage supplementation. *Biomass Conv. Bioref.* 12, 2749–2765. <https://doi.org/10.1007/s13399-020-00929-1>.
- Kajtna, J.; Sebenik, U. (2017). Novel acrylic/nanocellulose microsphere with improved adhesive properties. *International Journal of Adhesion and Adhesives*. 74. 100-106. [10.1016/j.jadhadh.2016.11.013](https://doi.org/10.1016/j.jadhadh.2016.11.013).
- Kakroodi, A. R.; Cheng, S.; Sain, M.; Asiri, A. (2014). Mechanical, Thermal, and Morphological Properties of Nanocomposites Based on Polyvinyl Alcohol and Cellulose Nanofiber from Aloe vera Rind. *Journal of Nanomaterials*, 2014: 1-7. doi.org/10.1155/2014/903498.

- Karthika, K.; Arun, A. B.; Melo, J. S.; Mittal, K. C.; Kumar, M.; Rekha, P. D. (2013). Hydrolysis of acid and alkali presoaked lignocellulosic biomass exposed to electron beam irradiation. *Bioresource Technology*, 129: 646–649, 2013. doi: 10.1016/j.biortech.2012.12.048.
- Kassaye, S.; Gupta, D.; Pant, K.K.; Jain, S. (2022). Valorization of Microcrystalline Cellulose Using Heterogeneous Protonated Zeolite Catalyst: An Experimental and Kinetics Approach. *Reactions*, 3: 283-299. <https://doi.org/10.3390/reactions3020021>.
- Klemm, D.; Kramer, F.; Moritz, S.; Lindström, T.; Ankerfors, M.; Gray, D.; Dorris, A. (2011) Nanocelluloses: A New Family of Nature-Based Materials. *Angewandte Chemie*, 50: 5438 – 5466.
- Krogell, J.; Korotkova, E.; Eränen, K.; Pranovich, A.; Salmi, T.; Murzin, D.; Willför, S. (2013). Intensification of hemicellulose hot-water extraction from spruce wood in a batch extractor – Effects of wood particle size. *Bioresource Technology*, 143: 212–220. doi: 10.1016/j.biortech.2013.05.110.
- Krumova, E.; Kostadinova, N.; Miteva-Staleva, J.; Stoyancheva, G.; Spasova, B.; Abrashev, R.; Angelova, M. (2018). Potential of ligninolytic enzymatic complex produced by white-rot fungi from genus *Trametes* isolated from Bulgarian forest soil. *Engineering in life sciences*, 18(9), 692–701. <https://doi.org/10.1002/elsc.201800055>.
- Kulkarni, N.; Shendye, A.; Rao, M. (1999). Molecular and biotechnological aspects of xylanases. *FEMS Microbiology Reviews*, 23: 411-456.
- Kumar, A.; Chandra, R. (2020). Ligninolytic enzymes and its mechanisms for degradation of lignocellulosic waste in environment. *Heliyon*, 6(2), e03170. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03170>.
- Kumar, K. S.; Manimaran, A.; Permaul, K.; Singh, S. (2009). Production of β -xylanase by a *Thermomyces lanuginosus* MC 134 mutant on corn cobs and its application in biobleaching of bagasse pulp. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 107: 494–498. doi: 10.1016/j.jbiosc.2008.12.020.
- Kurakabe, M.; Shinjii, O.; Komaki, T. (1997) Transxylosilation of β -xylosidase from *Aspergillus awamori* K4. *Biosci Biotechnol Biochem*, 6112: 2010–2014.
- Kuwahara, M.; Glenn, J.K.; Morgan, M.A.; Gold, M.H. (1984). Separation and characterization of two extracellular H₂O₂-dependent oxidases from ligninolytic cultures of *Phanerochaete chrysosporium*. *FEBS Lett.*, 169: 247–250.

- Lahiri, D.; Nag, M.; Dutta, B.; Dey, A.; Sarkar, T.; Pati, S.; Edinur, H. A.; Abdul Kari, Z.; Mohd Noor, N. H.; Ray, R. R. (2021). Bacterial Cellulose: Production, Characterization, and Application as Antimicrobial Agent. *International journal of molecular sciences*, 22(23), 12984. <https://doi.org/10.3390/ijms222312984>.
- Lakhundi, S.; Siddiqui, R.; Khan, N. A. (2015). Cellulose degradation: a therapeutic strategy in the improved treatment of *Acanthamoeba* infections. *Parasites & vectors*, 8, 23. doi.org/10.1186/s13071-015-0642-7.
- Lavoine, N.; Bergström, Lennart. (2017). Nanocellulose-based foams and aerogels: Processing, properties, and applications. *J. Mater. Chem. A*. 5. 10.1039/C7TA02807E.
- Lecot, N.; Gandaras, R.; Batista-Menezes, D.; Montes de Oca-Vásquez, G.; Cabral, P.; García, M.F.; Vega-Baudrit, J.; Cerecetto, H.; Lopretti, M. (2021) Preparation and Characterization of a Novel Nanocellulose-Derivative as a Potential Radiopharmaceutical Agent. *Waste and Biomass Valorization*, 0, -. [doi:10.1007/s12649-021-01495-x](https://doi.org/10.1007/s12649-021-01495-x).
- Lee, H. V.; Hamid, S. B. A.; Zain, S. K. (2014). Conversion of lignocellulosic biomass to nanocellulose: structure and chemical process. *The Scientific World Journal*, 2014: 631013. [doi: 10.1155/2014/631013](https://doi.org/10.1155/2014/631013).
- Li, S.; Gao, Y.; Bai, H.; Zhang, L.; Qu, P.; Bai, L. (2011). Preparation and characteristics of polysulfone dialysis composite membranes modified with nanocrystalline cellulose. *Bioresources*, 6(2), 1670-1680.
- Liang, J.; Nabi, M.; Zhang, P.; Zhang, G.; Cai, Y.; Wang, Q.; Zhou, Z.; Ding, Y. (2020). Promising biological conversion of lignocellulosic biomass to renewable energy with rumen microorganisms: A comprehensive review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 134:110335. ISSN 1364-0321. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2020.110335>.
- Liu, J.; Cao, X. (2013) Biodegradation of microcrystalline cellulose in pH-pH recyclable aqueous two-phase systems with water-soluble immobilized cellulase. *Biochemical Engineering Journal*, 79: 136–143. [doi: 10.1016/j.procbio.2012.07.016](https://doi.org/10.1016/j.procbio.2012.07.016).
- Liu, S. (2005). 6-Hydrazinonicotinamide Derivatives as Bifunctional Coupling Agents for ^{99m}Tc-Labeling of Small Biomolecules. In: Krause, W. (eds) Contrast Agents III. *Topics in Current Chemistry*, vol. 252. Springer, Berlin, Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/b101226>.

- Liu, S.; Gonzalez, M.; Kong, C. et al. (2021). Synthesis, antibiotic structure–activity relationships, and cellulose dissolution studies of new room-temperature ionic liquids derived from lignin. *Biotechnol Biofuels* 14, 47. <https://doi.org/10.1186/s13068-021-01898-x>.
- Liu, X.; Jiang, Y.; Wang, L.; Song, X.; Qin, C.; Wang, S. (2020) *Tuning of size and properties of cellulose nanofibers isolated from sugarcane bagasse by endoglucanase-assisted mechanical grinding*. *Industrial Crops and Products*, 146: 112201–. doi:10.1016/j.indcrop.2020.112201.
- Lopretti, M. (1990). *Sistemas enzimáticos de hongos y bacterias modificadoras de Lignina*. Tesis de PhD en Biología. PEDECIBA, UdelaR.
- Lu, Y.; He, Q.; Fan, G.; Cheng, Q.; Song, G. (2021). Extraction and modification of hemicellulose from lignocellulosic biomass: *A review*. *Green Processing and Synthesis*, 10(1), 779-804. <https://doi.org/10.1515/gps-2021-0065>.
- Luxin, Z.; Guoyun, X.; Kun, Y.; Han, Y.; Xiaochang, W. (2017) Furfural production from biomass–derived carbohydrates and lignocellulosic residues via heterogeneous acid catalysts. *Industrial Crops and Products*, 98:68-75, ISSN 0926-6690. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.01.014>.
- Maiuolo, L.; Algieri, V.; Olivito, F.; Tallarida, M.A.; Costanzo, P.; Jiritano, A.; De Nino, A. (2021). Chronicle of Nanocelluloses (NCs) for Catalytic Applications: Key Advances. *Catalysts*, 11: 96. <https://doi.org/10.3390/catal11010096>
- Maleki, O.; Khaledabad, M.A.; Amiri, S.; Asl, A.K.; Makouie, S. (2020). *Microencapsulation of Lactobacillus rhamnosus ATCC 7469 in whey protein isolate-crystalline nanocellulose-inulin composite enhanced gastrointestinal survivability*. *LWT*, 126, 109224.
- Mateo, S.; Peinado, S.; Morillas-Gutiérrez, F.; La Rubia, M.D.; Moya, A.J. (s/f). Nanocellulose from Agricultural Wastes: Products and Applications—A Review. *Processes*, 9: 1594. <https://doi.org/10.3390/pr9091594>.
- Menezes, D.B.; Brazil, O.A.V.; Romanholo-Ferreira, L.F.; et al. (2017). Prospecting fungal ligninases using corncob lignocellulosic fractions. *Cellulose* 24, 4355–4365. <https://doi.org/10.1007/s10570-017-1427-2>.
- Menezes, D.B.; Diz, F.M.; Romanholo Ferreira, L.F.; et al. (2021). Starch-based biocomposite membrane reinforced by orange bagasse

- cellulose nanofibers extracted from ionic liquid treatment. *Cellulose* 28, 4137–4149. doi.org/10.1007/s10570-021-03814-w.
- Merino, S. T.; Cherry, J. (2007) Progress and challenges in enzyme development for biomass utilization. *Advances in Biochemical Engineering, Biotechnology*, 108: 95–120. doi: 10.1007/10_2007_066.
- Moraes, E.d.C.; Silva, D.D.V.; Dussán, K.J.; et al. (2020). Xylitol-Sweetener Production from Barley Straw: Optimization of Acid Hydrolysis Condition with the Energy Consumption Simulation. *Waste Biomass Valor* 11: 1837–1849. <https://doi.org/10.1007/s12649-018-0501-9>.
- Moreno, G., Sibaja, B., Jiménez, G., Vega, J., Camacho, M. (2019). “Producción y caracterización de nanocelulosa obtenida a partir de los desechos agroindustriales de cáscara de piña”. *Nanocelia: producción y usos de la celulosa nanofibrilada y microfibrilada*, Libro digital, 1a ed, 96-116. ISBN 978-950-766-140-2.
- Mtibe, A.; Linganis, L. Z.; Mathew, A. P.; Oksman, K.; John, M. J.; Anandjiwala, R. D. (2015). A comparative study on properties of micro and nanopapers produced from cellulose and cellulose nanofibres. *Carbohydrate Polymers*, 118: 1–8. doi: 10.1016/j.carbpol.2014.10.007.
- Nuangmek, W.; Aiduang, W.; Kumla, J.; Lumyong, S.; Suwannarach, N. (2021). Evaluation of a newly identified endophytic fungus, *Trichoderma phayaoense* for plant growth promotion and biological control of gummy stem blight and wilt of muskmelon. *Frontiers in microbiology*, 12, 410.
- Paricaguán, B.; Muñoz, J. (2019). Estudio de las propiedades mecánicas del concreto reforzado con fibras de bagazo de caña de azúcar. *Revista Ingeniería UC*, 26(2), 202-212. ISSN: 1316–6832.
- Parth, G.M.; Anirban, D.; Bharti, Saini. (2021). Isolation of nanocellulose from lignocellulosic biomass: Synthesis, characterization, modification, and potential applications. *Journal of Environmental Chemical Engineering* 9: 6, 2021, 106606, doi.org/10.1016/j.jece.2021.106606.
- Pasin, T.M.; Almeida, P.Z.; Almeida, S.A.S.; Conceição, I.J.; Teixeira, M.; Polizeli, M.d.L. (2020). Bioconversion of Agro-industrial Residues to Second-Generation Bioethanol. In: Nanda, S., N. Vo, DV., Sarangi, P. (eds) *Biorefinery of Alternative Resources: Targeting Green Fuels and Platform Chemicals*. Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-15-1804-1_2.

- Peil, S.; Beckers, S.J.; Fischer, J.; Wurm, F.R. (2020). Biodegradable, lignin-based encapsulation enables delivery of *Trichoderma reesei* with programmed enzymatic release against grapevine trunk diseases. *Materials Today Bio*, 7, 100061.
- Peng, N., Wang, Y., Ye, Q., Liang, L., An, Y., Li, Q., & Chang, C. (2016). Biocompatible cellulose-based superabsorbent hydrogels with antimicrobial activity. *Carbohydrate polymers*, 137, 59-64 .
- Petersson, L.; Mathew, A. P.; Oksman, K. (2009) Dispersion and properties of cellulose nanowhiskers and layered silicates in cellulose acetate butyrate nanocomposites. *Journal of Applied Polymer Science*, 112: 2001–2009. doi.org/10.1002/app.29661.
- Phitsuwan, P.; Sakka, K.; Ratanakhanokchai, K. (2013). Improvement of lignocellulosic biomass in planta: A review of feedstocks, biomass recalcitrance, and strategic manipulation of ideal plants designed for ethanol production and processability. *Biomass and Bioenergy*, 58: 390-405. doi.org/10.1016/j.biombioe.2013.08.027.
- Pirich, C.L.; Picheth, G.F.; Fontes, A.M.; et al. (2020). Disruptive enzyme-based strategies to isolate nanocelluloses: a review. *Cellulose* 27, 5457–5475. doi.org/10.1007/s10570-020-03185-8
- Portela, R.; Leal, C.R.; Almeida, P.L.; Sobral, R.G. (2019). Bacterial cellulose: a versatile biopolymer for wound dressing applications. *Microbial biotechnology*, 12(4), 586–610. https://doi.org/10.1111/1751-7915.13392 .
- Radakisnin, R.; Abdul Majid, M.S.; Jamir, M.R.M.; Jawaid, M.; Sultan, M.T.H.; Mat Tahir, M.F. (2020) Structural, Morphological and Thermal Properties of Cellulose Nanofibers from Napier fiber (*Pennisetum purpureum*). *Materials*, 13(18), 4125. doi:10.3390/ma13184125.
- Raveendran, S.; Parameswaran, B.; Ashok, P. (2016). Biological pretreatment of lignocellulosic biomass – An overview. *Bioresource Technology*, 199:76-82, ISSN 0960-8524. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.08.030.
- Ravindran, R.; Hassan, S.S.; Williams, G.A.; Jaiswal, A.K. (2018). A Review on Bioconversion of Agro-Industrial Wastes to Industrially Important Enzymes. *Bioengineering* 2018, 5, 93. https://doi.org/10.3390/bioengineering5040093.

- Reddy, N.; Yang, Y. (2015). *Production of Cellulose Fibers Using Ionic Liquids. In: Innovative Biofibers from Renewable Resources*. Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-662-45136-6_19.
- Reiniati, I.; Hrymak, A. N.; Margaritis, A. (2017). Recent developments in the production and applications of bacterial cellulose fibers and nanocrystals. *Critical reviews in biotechnology*, 37(4), 510–524. <https://doi.org/10.1080/07388551.2016.1189871>.
- Roman, M.; Winter, W.T. (2004). Effect of sulfate groups from sulfuric acid hydrolysis on the thermal degradation behavior of bacterial cellulose. *Biomacromolecules*, 5: 1671–1677. doi: 10.1021/bm034519+.
- Samir, M.A.S.A.; Alloin, F.; Dufresne, A. (2006) High Performance Nanocomposite Polymer Electrolytes. *Composite Interfaces*, 13: 545-559.
- Saparrat, M.C.N.; Mocchiutti, P.; Liggieri, C.S.; Aulicino, M.B.; Caffini, N.O.; Balatti, P.A. And Martínez, M.J. (2008). Ligninolytic Enzyme Ability And Potential Biotechnology Applications Of The White-Rot Fungus *Grammothele Subargentea* Lpsc No. 436 Strain. *Process Biochemistry*, 43: 368-375, 2008.
- Saravanan, A.; Senthil Kumar, P.; Jeevanantham, S.; Karishma, S.; Dai-Viet, N. (2022). Recent advances and sustainable development of biofuels production from lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology* 344: Part B, 126203, ISSN 0960-8524. doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126203.
- Satyamurthy, P.; Vigneshwaran, N. (2013). *A novel process for synthesis of spherical nanocellulose by controlled hydrolysis of microcrystalline cellulose using anaerobic microbial consortium* *Enzyme and Microbial Technology*, 52: 20–25. doi: 10.1016/j.enzmictec.2012.09.002.
- Schmitz, E.; Karlsson, E.N.; Adlercreutz, P. (2021). Ultrasound Assisted Alkaline Pre-treatment Efficiently Solubilises Hemicellulose from Oat Hulls. *Waste Biomass Valor* 12: 5371–5381. <https://doi.org/10.1007/s12649-021-01406-0>.
- Selorm, T.; Sukyai, P. (2020). Biodegradation and thermal stability of bacterial cellulose as biomaterial: The relevance in biomedical applications. *Polymer Degradation and Stability*, 179: 109232, ISSN 0141-3910, <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2020.109232>.
- Seoud, O. A. E.; Koschella, A.; Fidale, L. C.; Dorn, S.; Heinze, T. (2007). Applications of ionic liquids in carbohydrate chemistry: A window of opportunities. *Biomacromolecules*, 8: 2629-2647. doi:10.1021/bm070062i.

- Sharma, A.; Thakur, M.; Bhattacharya, M.; Mandal, T.; Goswami, S. (2019). *Commercial Application of Cellulose Nano-composites - A review, Biotechnology Reports*. 21, e00316, doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00316.
- Shruthy, Ramesh.; Preetha, Radhakrishnan. (2019). Cellulose nanoparticles from agro-industrial waste for the development of active packaging. *Applied Surface Science*, 484: 1274-1281, ISSN 0169-4332. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2019.04.003>.
- Shurong, W.; Gongxin, D.; Haiping, Y.; Zhongyang, L. (2017). *Lignocellulosic biomass pyrolysis mechanism: A state-of-the-art review, Progress in Energy and Combustion Science*, 62:33-86, ISSN 0360-1285. <https://doi.org/10.1016/j.pecs.2017.05.004>.
- Silva-Yumi, J.; Holguin, W.P.; Serrano, C.M. (2021). Agroindustrial Waste As Potential Source for Obtaining Nanocellulose. ESPOCH Congresses: *The Ecuadorian Journal of S.T.E.A.M.*, 1(2), 1033–1043. DOI 10.18502/epoch.v1i2.9529.
- Singhania, R.R.; Patel, A.K.; Tsai, M.L.; Chen, C.W.; Di, D.C. (2021). Genetic modification for enhancing bacterial cellulose production and its applications. *Bioengineered*, 12(1), 6793–6807. doi.org/10.1080/21655979.2021.1968989.
- Siqueira, G.; Bras, J.; Dufresne, A. (2010). Cellulosic bionanocomposites: A review of preparation, properties and applications. *Polymers* 2: 728-765, 2010.
- Solís, E.; Vega, J.B.; Rodríguez, E.; Meseguer, L.C. (2019). Estudio del efecto de la adición de nanocelulosa obtenida del desecho del rastrojo de piña en mezclas para materiales de construcción. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 20(1), 21-43.
- Soni, R.; Asoh, T-A.; Uyama, H. (2020). Cellulose nanofiber reinforced starch membrane with high mechanical strength and durability in water. *Carbohydrate Polymers*, 238: 116203, ISSN 0144-8617. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116203>.
- Stanisławska, Alicja. (2016). Bacterial Nanocellulose as a Microbiological Derived Nanomaterial. *Advances in Materials Science*. 16. 10.1515/adms-2016-0022.
- Su, Y.; Yang, B.; Liu, J.; Sun, B.; Cao, C.; Zou, X.; Lutes, R.; He, Z. (2018). Prospects for Replacement of Some Plastics in Packaging with Lignocellulose Materials: A Brief Review. *BioResources*. 13. 10.15376/biores.13.2.Su.

- Suárez-Espinoza, K. (2022). Avances y desafíos en la promoción y gestión público institucional de los residuos agropecuarios en Costa Rica. *Revista De Política Económica y Desarrollo Sostenible*, 7(2), 1-19. <https://doi.org/10.15359/peds.7-2.3>.
- Suryadi, H.; Judono, J.J.; Putri, M.R.; Eclessia, A.D.; Ulhaq, J.M.; Agustina, D.N.; Sumiati, T. (2022). *Biodelignification of lignocellulose using ligninolytic enzymes from white-rot fungi*. *Heliyon*, 8(2), e08865. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e08865>.
- Tan, C.; Peng, J.; Lin, W.; Xing, Y.; Xu, K.; Wu, J.; Chen, M. (2015). Role of surface modification and mechanical orientation on property enhancement of cellulose nanocrystals/polymer nanocomposites. *European Polymer Journal*, 62: 186–197. doi: 10.1016/j.eurpolymj.2014.11.033.
- Tejal, V.P.; Dinesh, K.P.; Sayan, D.D.; Keya, G.; Tuhin, S.S.; Ki-Taek, L. (2022). Nanocellulose, a versatile platform: From the delivery of active molecules to tissue engineering applications. *Bioactive Materials*, Volume 9, 566-589, <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2021.07.006>.
- Thalita, J.B.; Camila, F.; Graziela, S.B.; Cristiane, S.F. (2022) Cellulose nanostructures obtained using enzymatic cocktails with different compositions. *International Journal of Biological Macromolecules*, Volume 207: 299-307, ISSN 0141-8130, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.03.007>.
- Trache, D.; Tarchoun, A.F.; Derradji, M.; Hamidon, T.S.; Masruchin, N.; Brosse, N.; Hussin, M.H. (2020). Nanocellulose: From Fundamentals to Advanced Applications. *Front Chem*, 8: 392. doi:10.3389/fchem.2020.00392. PMID: 32435633; PMCID: PMC7218176.
- Urbina, L.; Guaresti, O.; Requies, J.; Gabilondo, N.; Eceiza, A.; Corcuera, M.A.; Retegi, A. (2018). Design of reusable novel membranes based on bacterial cellulose and chitosan for the filtration of copper in wastewaters. *Carbohydrate Polymers*, 193: 362-372, ISSN 0144-8617. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.04.007>.
- Velusamy, V.; Palanisamy, S.; Chen, S. M.; Chen, T. W.; Selvam, S.; Ramaraj, S. K., Lou, B. S. (2017). Graphene dispersed cellulose microfibers composite for efficient immobilization of hemoglobin and selective biosensor for detection of hydrogen peroxide. *Sensors and actuators b: Chemical*, 252: 175-182.

- Wang B.; Sain M. (2007). Isolation of nanofibers from soybean source and their reinforcing capability on synthetic polymers. *Composites Science and Technology*, 67: 2521–2527. doi: 10.1016/j.compscitech.2006.12.015.
- Yamada, Y.; Yukphan, P.; Vu, H.; Muramatsu, Y.; Ochaikul, D.; Tanasupawat, S.; Nakagawa, Y. (2012). Description of *Komagataeibacter* gen. nov., with proposals of new combinations (Acetobacteraceae). *The Journal of general and applied microbiology*. 58. 397-404. 10.2323/jgam.58.397.
- Yi, J.; He T.; Jiang, Z.; Li, J.; Hu, C. (2013). AlCl₃ catalyzed conversion of hemicellulose in corn stover. *Chinese Journal of Catalysis*, 34: 2146–2152. doi: 10.1016/S1872-2067(12)60718-9.
- Yoo, C.G.; Pu, Y.; Ragauskas, A.J. (2017). Ionic liquids: Promising green solvents for lignocellulosic biomass utilization. *Current opinion in green and sustainable chemistry*, 5: 5-11. doi: 10.1016/j.cogsc.2017.03.003.
- Yu, S.; Sun, J.; Shi, Y.; Wang, Q.; Wu, J.; Liu, J. (2021). Nanocellulose from various biomass wastes: Its preparation and potential usages towards the high value-added products. *Environmental Science and Ecotechnology*, 5: 100077, ISSN 2666-4984. <https://doi.org/10.1016/j.ese.2020.100077>.
- Zhang, Q.; Hu, J.; Lee, D. J. (2017). Pretreatment of biomass using ionic liquids: Research updates. *Renewable Energy*, 111: 77–84. doi:10.1016/j.renene.2017.03.093.
- Zhang, W.; Zhang, Y.; Cao, J.; Jiang, W. (2021). Improving the performance of edible food packaging films by using nanocellulose as an additive. *International Journal of Biological Macromolecules*, 166, 288-296.
- Zhang, X.; Li, Y.; Guo, M.; Jin, T.Z.; Arabi, S.A.; He, Q.; Liu, D. (2021). Antimicrobial and UV blocking properties of composite chitosan films with curcumin grafted cellulose nanofiber. *Food Hydrocolloids*, 112, 106337.
- Zhao, M.; Zeng, Z.; Zeng, G.; Huang, D.; Lai, C. F. C.; Huang, C.; Wei, Z.; Li, N.; Xu, P.; Zhang, C.; Liu, Z.; Xie, G. (2012). Effects of ratio of manganese peroxidase to lignin peroxidase on transfer of ligninolytic enzymes in different composting substrates. *Biochemical Engineering Journal*, 67: 132– 139, 2012.
- Zhong, C. (2020). Industrial-Scale Production and Applications of Bacterial Cellulose. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 8, 605374. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.605374>.

- Zhou, Y.; Yuan, X.; Liang, X. F.; Fang, L.; Li, J.; Guo, X.; Bai, X.; He, S. (2013). Enhancement of growth and intestinal flora in grass carp: The effect of exogenous cellulase. *Aquaculture*, 416-417, 1-7. doi: 10.1186/s12864-015-1217-x.
- Zin, H. W.; Park, K.; Choi, T. J. (2014). Purification and characterization of a carboxymethyl cellulase from *Artemia salina*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 443:194- 199. doi: 10.1016/j.bbrc.2013.11.085.