RESSALVA

Atendendo solicitação da autora, o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 25/04/2024.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de São José do Rio Preto

Érike Jhonnathan Pereira

Biotransformação bacteriana de ácido *p*-cumárico a 4-vinilfenol

São José do Rio Preto
2022

Érike Jhonnathan Pereira

Biotransformação bacteriana de ácido *p*-cumárico a 4-vinilfenol

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Microbiologia, junto ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CAPES

Orientador: Profª. Drª. Eleni Gomes
Coorientador: Dr. Gustavo Metzker

São José do Rio Preto
2022

P436b

Pereira, Érike Jhonnathan
Biotransformação bacteriana de ácido p-cumárico a 4-vinilfenol / Érike Jhonnathan Pereira. -- São José do Rio Preto, 2022
72 p. : il., tabs., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto
Orientadora: Eleni Gomes
Coorientador: Gustavo Metzker

1. Microbiologia aplicada. 2. Bactéria. 3. Biotransformação de compostos aromáticos. 4. Ácido p-cumárico. I. Título.

Érike Jhonnathan Pereira

Biotransformação bacteriana de ácido *p*-cumárico a 4-vinilfenol

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Microbioloa, junto ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CAPES

Comissão Examinadora

Profª. Drª. Eleni Gomes
UNESP – Câmpus de São José do Rio Preto
Orientador

Prof. Dr. Rafael Mafra de Paula Dias
UFSJ – Universidade Federal de São João del-Rei

Prof. Dr. Mauricio Boscolo
UNESP – São José do Rio Preto

São José do Rio Preto
25 de abril de 2022

Dedico este trabalho de pesquisa a Deus, meus pais e todos aqueles que me apoiaram ao longo dessa jornada, dos quais eu compartilho essa conquista, com amor e gratidão eterna.

AGRADECIMENTOS

À toda minha família querida, em especial aos meus pais e irmã, que não se ausentaram mesmo nos momentos mais difíceis, sempre me apoiando, independente da distância criada pela dedicação desta etapa da vida.

Ao Instituto de Biociência Letras e Ciências Exatas, Unesp e ao programa de Pós-Graduação em Microbiologia.

À minha orientadora Prof.ª Dr.ª Eleni Gomes, pela dedicação nas correções e orientações neste período de aprendizado.

Ao meu coorientador Dr. Gustavo Metzker e ao Dr. Ronivaldo Rodrigues da Silva, pela paciência e pelas lições ensinadas, participando de modo definitivo da minha formação.

A todos meus companheiros de pós-graduação que transformaram o longo período de dedicação em algo mais divertido.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, à qual agradeço,

RESUMO

A biomassa lignocelulósica (lignina, celulose e hemicelulose) oriunda da indústria sucroalcooleira (bagaço de cana-de-açúcar) é atualmente subutilizada para geração de calor através de sua queima em caldeiras para produção de energia elétrica. No entanto, essa biomassa pode se tornar uma fonte potencial para obtenção de açúcares fermentáveis e de compostos fenólicos, que também podem passar por processos de bioconversão para obtenção de compostos químicos de alto valor agregado. Dentre os compostos fenólicos presentes na biomassa de cana-de-açúcar, destaca-se o ácido *p*-cumárico (AC) que através de reação de descarboxilação pode ser convertido a 4-vinilfenol (4VF) sendo este um composto de alto valor agregado e de grande aplicabilidade na indústria de química fina. Logo, o presente trabalho propôs a biotransformação bacteriana do AC em 4VF em solução modelo. Das cinco cepas bacterianas estudadas, *Ochrobactrum intermedium* TG 3.48, *Stenotrophomonas acidaminiphila* TD 4.7 e 3 isoladas, entretanto, ainda não identificadas: TD 2.18.1, TD 2.18.2 e TG 4.48.2, somente a cepa *Ochrobactrum intermedium* mostrou-se capaz de tolerar concentrações de AC de até 300 mg L^{-1}. A referida cepa consumiu 92% do AC inicial, com um rendimento de 92% de 4VF em 3 horas de fermentação. Experimentos realizados em meio de cultura sem glicose indicaram que a cepa *Ochrobactrum intermedium* TG 3.48 continua sendo capaz de fazer a bioconversão, no entanto o consumo de AC (89%) apresentou uma pequena queda se comparado ao experimento que continha glicose, contudo, o rendimento se mantém em igual proporção.

Palavras–chave: Bactéria. Biotransformação de compostos aromáticos. Ácido *p*-cumárico.

ABSTRACT

The lignocellulosic biomass (lignin, cellulose and hemicellulose) from the sugarcane industry (sugarcane bagasse) is currently underused for heat generation by burning it in boilers to produce electricity. However, this biomass can become a potential source for obtaining fermentable sugars and phenolic compounds, which can also undergo bioconversion processes to obtain high-added value chemicals. Among the phenolic compounds present in the sugarcane biomass, the *p*-coumaric acid (AC) which through decarboxylation reaction can be converted into 4-vinylphenol (4VF) is a high-added value compound with and great applicability in the fine chemical industry. Thus, the present work proposed the bacterial biotransformation of AC into 4VF in a model solution. Taking into account the five bacterial strains studied, *Ochrobactrum intermedium* TG 3.48, *Stenotrophomonas acidaminiphila* TD 4.7 and 3 isolated, however, not yet identified: TD 2.18.1, TD 2.18.2 and TG 4.48.2, only the *Ochrobactrum intermedium* strain was able to tolerate AC concentrations up to 300 mg L^{-1}. The last- mentioned strain was able to consume 92% of the initial amount of AC, with a 92% yield of 4VF in 3 hours of fermentation. In medium without glucose, the bacterium *Ochrobactrum intermedium* TG 3.48 was also able to grow and bioconvert AC, but compared to the culture containing glucose, we noticed a reduction in AC conversion (89%), although the proportion in the experiment was similar.

Keywords: Bacterium. Biotransformation of aromatic compounds. *p*-Coumaric acid

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Composição do resíduo lignocelulósico..... 18
Figura 2 – Representação esquemática do bioprocessamento dos resíduos lignocelulósicos..... 19
Figura 3 – Estruturas químicas dos precursores que constituem a lignina..... 21
Figura 4 – Fragmentação da lignina em derivados de baixa massa molecular..... 22
Figura 5 – Estrutura química do fenol..... 24
Figura 6 – Metabolismo primário e secundário das plantas..... 25
Figura 7 – Estrutura química do ácido cinâmico..... 26
Figura 8 – Síntese de ácido cinâmico na via fenilpropanoide catalisada pela enzima PAL..... 27
Figura 9 – Estrutura química do ácido *p*-cumárico (AC)..... 28
Figura 10 – Síntese de ácido *p*-cumárico na via fenilpropanoide catalisada pela enzima 4HC..... 29
Figura 11 – Aplicações comerciais de 4VF e seus devidos em vários setores da indústria..... 31
Figura 12 – Desidrogenação catalítica do 4-etilfenol à 4VF..... 31
Figura 13 – Condensação Knoevenagel-Doeber de benzaldeídos na geração de 4VF..... 32
Figura 14 – Vias de biotransformação do AC em bactérias e fungos para outros compostos aromáticos derivados..... 33
Figura 15 – Atividade catalítica da enzima descarboxilase..... 34
Figura 16 – Colônias das cepas (A) *O. intermedium* TG 3.48, (B) *S. acidaminiphila* TD 4.7, (C) TD 2.18.1, (D) TD 2.18.2 e (E) TG 4.48.2..... 36
Figura 17 – Gradiente de eluição da fase B do método cromatográfico..... 39
Figura 18 – Curva de crescimento das cepas (A) *Ochrobactrum intermedium* TG 3.48 e (B) *Stenotrophomonas acidaminiphila* TD 4.7..... 41
Figura 19 – Curva de crescimento das cepas não identificadas (C) TD 2.18.1 e (D) TD 2.18.2..... 42
Figura 20 – Curva de crescimento da cepa não identificada (E) TG 4.48.2..... 43

Figura 21 – Cromatogramas referentes aos padrões dos reagentes AC (A), 4VF (B) em conjunto da obtida durante a bioconversão da cepa *Ochrobactrum intermedium* TG 3.48 (C) em uma hora de fermentação..... 45
Figura 22 – Screening da cepa *Ochrobactrum intermedium* TG 3.48, mensurando o crescimento bacteriano, alteração do pH, em conjunto das variações na concentração de AC e glicose disponíveis no meio..... 46
Figura 23 – Perfil de crescimento bacteriano da cepa *Ochrobactrum intermedium* TG 3.48, consumo de AC, formação de 4VF, e pH em meio de cultura acrescido de glicose..... 47
Figura 24 – Perfil de crescimento bacteriano da cepa *Ochrobactrum intermedium* TG 3.48, consumo de AC, formação de 4VF, e pH em meio de cultura ausente de glicose..... 52
Figura 25 – Vias de biotransformação do AC em bactérias e geração de compostos aromáticos derivados..... 53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Comparação entre estudos de biotransformação de cepa bacterianas de CA a 4FV sob meios de cultivo e condições variadas..... 50

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

3HC 3-hidroxilase do cumarilico/coumaryl 3-hydroxylase

4HC 4-hidroxilase do ácido cinâmico/cinnamic acid 4-hydroxylase

4VF 4-vinilfenol/4-vinylphenol

5HF 5-hidroxilase do ferúlico/ferulic 5-hydroxylase

AC Ácido *p*-cumárico/p-coumaric acid

AF Ácido ferúlico/ferulic acid

AFMT ácido cafeico orto-metiltransferase/caffeic acid ortho-methyltransferase

CA Controle abiótico

CB Controle biótico

CIM Concentração inibitória mínima/minimum inhibitory concentration

CLAE Cromatografia líquida de alta performance/high performance liquid cromatography

DO_{600nm} Densidade ótica em 600 nanômetros

FAL Fenilalanina amônia-liase/phenylalanine ammonia-lyase

Fdc1 Ácido ferúlico descarboxilase/ferulic acid decarboxylase

MLN Meio líquido nutritivo/nutritive liquid medium

MLM Meio líquido mineral/mineral liquid medium

PAD Ácido fenólico descarboxilase/phenolic acid descarboxylase

Pdc1 Ácido *p*-cumárico descarboxilase/p-coumaric acid decarboxylase

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 14

1.1 Objetivos 17

1.1.1 Gerais 17

1.1.2 Específicos 17

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 18

2.1 Produção de resíduos lignocelulósicos 18

2.2 Lignina e seu potencial na geração de valor agregado 20

2.3 Compostos fenólicos 24

2.4 Ácidos cinâmicos 26

2.5 Ácido *p*-cumárico 28

2.6 4-Vinilfenol (4VF): Obtenção e aplicações 30

3 METODOLOGIA 36

3.1 Microrganismos 36

3.2 Meios de cultura 37

3.3 Obtenção do inóculo 37

3.4 Ensaio para avaliação de tolerância das cepas ao ácido p-cumárico e *screening* 37

3.5 Avaliação da bioconversão de ácido *p*-cumárico a 4-vinilfenol em meio sintético pela cepa bacteriana *Ochrobactrum intermedium* TG 3.48 38

3.6 Preparo de amostra e quantificação do ácido *p*-cumárico e do 4-vinilfenol por cromatografia líquida de alta eficiência 39

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO 41

4.1 Avaliação de tolerância das cepas ao ácido *p*-cumárico 41

4.2 Avaliação da bioconversão de ácido *p*-cumárico a 4-vinilfenol em meio sintético 44

4.2.1 *Screening* das cepas bacterianas 44

4.2.2 Biotransformação do ácido *p*-cumárico a 4-vinilfenol pela cepa bacteriana *Ochrobactrum intermedium* TG 3.48 47

4.3 Biotransformação do ácido p-cumárico a 4-vinilfenol pela cepa bacteriana *Ochrobactrum intermedium* TG 3.48 em meio de cultura ausente de glicose.....51

5 CONCLUSÕES.....55

REFERÊNCIAS 56

APÊNDICE A - Dados de quantificação do ácido *p*-cumárico (CA) e 4-vinilfenol (4VF) em cromatografia liquida de alta eficiência (CLAE) da cepa *Ochrobactrum intermedium* TG 3.48 em meio contendo glicose.....63

APÊNDICE B - Tabela de valores obtidos na quantificação de AC durante a fermentação de 3 horas da cepa *Ochrobactrum intermedium* em MLM contendo glicose..63

APÊNDICE C - Tabela de valores obtidos na quantificação de 4VF durante a fermentação de 3 horas da cepa *Ochrobactrum intermedium* em MLM contendo glicose..64

APÊNDICE D - Dados de quantificação do ácido *p*-cumárico (CA) e 4-vinilfenol (4VF) em cromatografia liquida de alta eficiência (CLAE) da cepa *Ochrobactrum intermedium* TG 3.48 em meio ausente de glicose.....65

APÊNDICE E - Tabela de valores obtidos na quantificação de AC durante a fermentação de 3 horas da cepa *Ochrobactrum intermedium* em MLM ausente de glicose.....66

APÊNDICE F - Tabela de valores obtidos na quantificação de 4VF durante a fermentação de 3 horas da cepa *Ochrobactrum intermedium* em MLM ausente de glicose.....67

APÊNDICE G - Concentrações de ácido *p*-cumárico (CA) e 4-vinilfenol (4VF) da curva de calibração em cromatografia liquida de alta eficiência (CLAE).....68

APÊNDICE H - Tabela de valores obtidos na curva de calibração de AC usadas para quantificação nas fermentações de 3 horas da cepa *Ochrobactrum intermedium* em MLM.....69

APÊNDICE I - Gráfico da curva de calibração do AC.....69

APÊNDICE J - Tabela de valores obtidos na curva de calibração de 4FV usadas para quantificação nas fermentações de 3 horas da cepa *Ochrobactrum intermedium* em MLM.....70

APÊNDICE K - Gráfico da curva de calibração do 4VF 70

APÊNDICE L - Concentrações de glicose da curva de calibração em espectrofotômetro de UV-Vis 70

APÊNDICE M - Tabela de valores obtidos na curva de calibração de glicose usados para quantificação na fermentação de 3 horas da cepa *Ochrobactrum intermedium* em MLM contendo glicose 71

APÊNDICE N - Gráfico da curva de calibração da glicose 71

1 INTRODUÇÃO

O crescimento da indústria agrícola brasileira tem aumentado a geração dos resíduos lignocelulósicos, demandando a estes uma melhor destinação, razão essa que tem incentivado várias pesquisas para o seu aproveitamento. Portanto, são necessários novos processos químicos e biológicos que sejam economicamente viáveis para a conversão da biomassa em produtos químicos de alto valor agregado, como biocombustíveis e outros compostos químicos amplamente utilizados pela indústria de química fina (CGEE, 2010).

O aproveitamento da biomassa lignocelulósica corresponde a separação e conversão dos seus principais constituintes: celulose, hemicelulose e lignina (PÉREZ et al., 2002). Os polissacarídeos têm seus compostos derivados mais intensamente explorados visando sua valorização econômica, como por exemplo, a utilização da celulose e hemicelulose na geração de hexoses e pentoses a serem convertidos em biocombustíveis (KOUTINAS et al., 2014).

Estes monossacarídeos são recuperados da biomassa vegetal mediante um método de pré-tratamento, normalmente químico, responsável pela desconstrução da matriz complexa dos resíduos lignocelulósicos, dissociando os monossacarídeos para fermentação subsequente (CHIO; SAIN; QIN, 2019). Todavia, a lignina obtida no processo, que é uma macromolécula composta de subunidades fenólicas, ainda não é aproveitada de forma equivalente a celulose e hemicelulose.

Os métodos de pré-tratamento químicos disponíveis utilizam soluções aquosas ácidas, alcalinas ou empregam solventes orgânicos sendo que cada método fornece produtos de desconstrução distintos a depender das características da matéria prima e dos produtos finais desejados, com cada método apresentando suas vantagens e desvantagens (WAGLE et al., 2022).

O pré-tratamento ácido utiliza o ácido sulfúrico (H_2SO_4), clorídrico (HCl) ou fosfórico (H_3PO_4), destacando-se principalmente o uso do ácido sulfúrico. O meio ácido dissolve a hemicelulose e modifica a lignina da matriz lignocelulósica aumentando a exposição da celulose para etapas posteriores de tratamento. Entretanto, embora seja um tipo de tratamento de simples aplicação, é menos utilizado pois requer reatores resistentes a corrosão, exige tratamento dos resíduos altamente acidificados além gerar inibidores que dificultam a utilização de microrganismos para a bioconversão dos produtos obtidos (CGEE, 2010).

Uma alternativa à utilização de ácidos é o pré-tratamento alcalino que utiliza bases como os hidróxidos de sódio (NaOH), potássio (KOH), cálcio ($Ca(OH)_2$) e de amônio (NH_4OH), sendo o hidróxido de sódio mais frequentemente usado pela indústria. As bases provocam a quebra da ligação éster na cadeia glicosídica entre a hemicelulose e/ou lignina-celulose, resultando na dissociação parcial da lignina, entumecimento da celulose nativa e perda parcial da cristalinidade da celulose e hemicelulose (ARNI, 2018). As vantagens do método de pré-tratamento alcalino são as condições mais amenas da reação, uma menor degradação dos monossacarídeos constituintes e a alta eficiência de remoção da lignina da biomassa vegetal (MUTHUVELU et al., 2019). As desvantagens do método de pré-tratamento alcalino são problemas de corrosão dos reatores, tratamento do resíduo com alta carga de base e dependendo do método, os longos tempos de reação (WAGLE et al., 2022). Como exemplo da utilização da hidrólise alcalina pode-se citar a produção etanol de 2ª geração (CHIO; SAIN; QIN, 2019) e o processo Kraft amplamente utilizado na produção de papel celulósico (ERAGHI KAZZAZ; FATEHI, 2020). Estes dois processos geram como produtos de reação uma massa amórfica de fibras celulósicas e o licor negro, rico em lignina, hemicelulose e vários outros compostos fenólicos (CARVALHO, 2011).

A lignina é a segunda macromolécula mais abundante da Terra, depois da celulose, presente nas plantas desempenhando funções de sustentação do tronco, impermeabilização do floema e defesa contra ataques mecânicos e microbianos (LINGER et al., 2014). No entanto, essas propriedades biológicas naturais acabam dificultando sua desconstrução nos tratamentos da biomassa vegetal (RAGAUSKAS et al., 2014). Dentre os compostos aromáticos que podem ser obtidos da lignina estão os ácidos cinâmicos, destacando-se os ácidos *p*-cumárico (AC) e ferúlico (AF), presentes principalmente na lignina da parede celular de plantas gramíneas como no trigo, arroz, milho e cana-de-açúcar. Porém, estes compostos não estão livres e sim associados por meio de ligações do tipo éster a lignina e aos polissacarídeos (LOU et al., 2012).

O AC apresenta um efeito antioxidante natural (DAS; GOUD; DAS, 2019 e DE LA ROSA et al., 2018), sendo que nos microrganismos, apresenta potencial bactericida variado. Essa resposta antimicrobiana pode ocorrer em duas vias: a primeira é na ligação com a membrana celular desestabilizando sua estrutura e provocando a lise osmótica; a segunda, tem ação direta sobre o DNA causando várias mutações deletérias. A associação dessas duas vias pode resultar em uma ação bactericida de alta eficiência (LOU et al., 2012).

As cepas bacterianas tolerantes a altas concentrações de AC normalmente possuem vias metabólicas de bioconversão deste composto, o transformando em metabólitos intermediários menos tóxicos ou assimiláveis, dos quais os mais interessantes para indústria são 4-vinilfenol (4VF) (PAZ et al., 2019; DEGRASSI; DE LAURETO; BRUSCHI, 1995), ácido cafeico (LIN; YAN, 2014), ácido *p*-hidroxibenzóico (JYOTHI; JIMCY; MANOHAR, 2018) e ácido protocatecuico (TORRES Y TORRES; ROSAZZA, 2001). O AC, além de ser um reagente em potencial, também é utilizado como aromatizante natural, na produção de alimentos, rações animais, cosméticos, além ser um bloco de construção químico na indústria farmacêutica e tecnológica (PAZ et al., 2019).

O AC e o 4VF estão disponíveis na natureza para extração, mas em quantidades pequenas, e, portanto, economicamente inviáveis considerando o tempo e recursos que seriam demandados. Na indústria, esses compostos têm sido produzidos por processos químicos de síntese, utilizando como reagentes de partida compostos oriundos da indústria petroquímica, que fazem o produto final apresentar custo elevado e ainda parte de uma matéria prima não renovável. Nesse contexto, a biotransformação dos precursores naturais por células e/ou enzimas em um processo de baixo custo e ambientalmente mais amigável mostra-se bastante atrativo (SACHAN et al., 2006).

Em trabalhos prévios do Laboratório de Bioquímica e Microbiologia Aplicada, Ibilce, Unesp, foram estudadas bactérias capazes de tolerar altas concentrações de AF e realizar sua biotransformação à 4-vinilguaiacol por ação da enzima ácido ferúlico descarboxilase. Estes resultados indicaram que algumas dessas linhagens também toleravam e/ou biotransformavam o AC a 4VF (DOS SANTOS et al., 2021). Assim, o presente trabalho propõe o estudo da tolerância e potencial bioconversão do AC em 4VF por cepas utilizando soluções modelo.

5 CONCLUSÕES

Os dados experimentais coletados até o presente, indicaram que das 5 cepas bacterianas inicialmente selecionadas, somente a cepa *Ochrobactrum intermedium* TG 3.48, foi capaz de tolerar o AC em uma concentração de 300 mg L^{-1} não afetando de forma expressiva seu crescimento. A cepa acima referida foi capaz de biotransformar o AC em 4VF com conversão e rendimento de 92% em 3 horas de fermentação. As análises de CLAE, utilizadas para a quantificação do consumo de AC e formação de 4VF, não indicaram a presença de outros compostos, sugerindo que a biotransformação se deu de forma direta.

A biotransformação também foi conduzida em meio na ausência de glicose. Os resultados indicaram que a cepa *Ochrobactrum intermedium* TG 3.48 foi capaz de aumentar sua biomassa sem a presença de glicose, porém, a conversão de AC diminuiu para 89% e o rendimento na geração de 4VF foi reduzido a 89%. Acredita-se a bactéria possa usar o AC como única fonte de carbono, contudo, não foi possível observar a surgimento de outros metabólitos além do 4VF.

REFERÊNCIAS

AB RASID, N. S. et al. Recent advances in green pre-treatment methods of lignocellulosic biomass for enhanced biofuel production. **Journal of Cleaner Production**, v. 321, p. 129038, 2021.

AKIN, D. E. Forage cell wall degradation and ρ-coumaric, ferulic, and sinapic acids. **Agronomy Journal**, v. 74, n. 3, p. 424–428, 1982.

AKIN, D. E. Plant cell wall aromatics: Influence on degradation of biomass. **Biofuels Bioproducts and Biorefining**, p. 288–303, 2008.

ARNI, S. AL. Extraction and isolation methods for lignin separation from sugarcane bagasse: A review. **Industrial Crops and Products**, p. 330–339, 2018.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, v. 99, n. 1, p. 191–203, 2006.

BERNINI, R. et al. Obtaining 4-vinylphenols by decarboxylation of natural 4-hydroxycinnamic acids under microwave irradiation. **Tetrahedron**, v. 63, n. 39, p. 9663–9667, 2007.

BETTACH, N. et al. A simplified wittig synthesis using a solid/liquid transfer process. VIII - Specific behaviour of methyltriphenylphosphorane during condensation with phenolic aldehydes. **Synthetic Communications**, v. 22, n. 4, p. 513–518, 1992.

BOULTON, R. B. et al. **Principles and Practices of Winemaking**. 1. ed. Boston: Springer, 1996.

BUSHNELL, L. D.; HAAS, H. F. The utilization of certain hydrocarbons by microorganisms. **Journal of bacteriology**, v. 41, n. 5, p. 653–73, 1941.

CALVO-FLORES, F. G.; DOBADO, J. A. Lignin as renewable raw material. **ChemSusChem**, v. 3, n. 11, p. 1227–1235, 2010.

CARDOSO, M.; DE OLIVEIRA, É. D.; PASSOS, M. L. Chemical composition and physical properties of black liquors and their effects on liquor recovery operation in Brazilian pulp mills. **Fuel**, v. 88, n. 4, p. 756–763, 2009.

CARVALHO, M. L. DE. **Estudo cinético da hidrólise enzimática de celulose de bagaço de**

cana-de-açucar. 2011. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2011. Disponível em: <https://repositorio.ufscar.br/handle/ufscar/4075?show=full>.

CAVIN, J. F.; BARTHELMEBS, L.; DIVIÈS, C. Molecular characterization of an inducible *p*-coumaric acid decarboxylase from *Lactobacillus plantarum*: Gene cloning, transcriptional analysis, overexpression in *Escherichia coli*, purification, and characterization. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 63, n. 5, p. 1939–1944, 1997.

CAVIN, J. F.; DARTOIS, V.; DIVIÈS, C. Gene cloning, transcriptional analysis, purification, and characterization of phenolic acid decarboxylase from *Bacillus subtilis*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 10, n. 3, p. 9–13, 1997.

CGEE. CENTRO DE GESTÃO DE ESTUDOS ESTRATÉGICOS. **Química verde no Brasil: 2010 - 2030**. Brasília: Centro de Gestão e Estudos Estratégicos. 2010. Disponível em: < https://www.cgee.org.br/documents/10195/734063/Livro_Quimica_Verde_9560.pdf>.

CHIO, C.; SAIN, M.; QIN, W. Lignin utilization: A review of lignin depolymerization from various aspects. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, p. 232–249, 2019.

CLIFFORD, M. N. Chlorogenic acids and other cinnamates – nature, occurrence and dietary burden. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 79, n. 3, p. 362–372, 1999.

CONAB. COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Perfil do setor do açúcar e etanol no Brasil:** Edição para a safra 2015/16. Brasília: Companhia Nacional de Abastecimento, 2019. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cana>.

DALE, W. J.; HENNIS, H. E. Substituted Styrenes. III. The syntheses and some chemical properties of the vinylphenols. **Journal of the American Chemical Society**, v. 80, n. 14, p. 3645–3649, 1958.

DAS, A. B.; GOUD, V. V.; DAS, C. Phenolic compounds as functional ingredients in beverages. *In*: GRUMEZESCU, A. M. et al. **Value-Added Ingredients and Enrichments of Beverages**. Londres: Academic Press, 2019. p. 285–323.

DAVIS, C. R. et al. Growth and metabolism of lactic acid bacteria during and after malolactic fermentation of wines at different pH. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 51, n. 3, p. 539–545, 1986.

DE LA ROSA, L. A. et al. Phenolic compounds. *In*: YAHIA, E. M. **Postharvest Physiology**

and Biochemistry of Fruits and Vegetables. Queretaro: Elsevier, 2018. p. 253-271.

DEGRASSI, G.; DE LAURETO, P. P.; BRUSCHI, C. V. Purification and characterization of ferulate and *p*-coumarate decarboxylase from *Bacillus pumilus*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 61, n. 1, p. 326–332, 1995.

DEMUNER, I. F. et al. Improving kraft pulp mill sustainability by lignosulfonates production from processes residues. **Journal of Cleaner Production**, v. 317, 2021.

DOS SANTOS, M. B. C. et al. Evaluation of the tolerance and biotransformation of ferulic acid by *Klebsiella pneumoniae* TD 4.7. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 52, n. 3, p. 1649, 2021.

DUGELAY, I. et al. Role of cinnamoyl esterase activities from enzyme preparations on the formation of volatile phenols during winemaking. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 41, n. 11, p. 2092–2096, 1993.

ECOLIG. **Ecolig - Da Natureza para a Inovação**. Disponível em: <https://www.suzanoecolig.com.br/>. Acesso em: 7 mar. 2022.

ERAGHI KAZZAZ, A.; FATEHI, P. Technical lignin and its potential modification routes: A mini-review. **Industrial Crops and Products**, v. 154, p. 112732, 2020.

FAO. ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA ALIMENTAÇÃO E AGRICULTURA. **Pulp and paper capacities survey /Capacités de la pâte et du papier enquête/Capacidades de pasta y papel estudio 2018–2023**. Roma: Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura, 2018. Disponível em: <https://www.fao.org/3/i4794t/i4794t.pdf>.

FAO. ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA ALIMENTAÇÃO E AGRICULTURA. **Global Forest Products 2018**. Roma: Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura, 2020. Disponível em: <https://www.fao.org/3/cb0513m/CB0513M.pdf>.

FIEGE, H. et al. Phenol derivates. *In:* ULLMAN, F. et al. **Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry**. Berlim: Wiley, 2012. p. 503-519.

FRAS, P. et al. Production of volatile phenols by *Lactobacillus plantarum* in wine conditions. **Biotechnology Letters**, v. 36, n. 2, p. 281–285, 2014.

GOMES, F. A. **Avaliação dos processos Kraft convencional e Lo-Solids® para madeira de Pinus taeda**. 2009. Dissertação (Mestrado em Recursos Florestais) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11150/tde-23062009-083702/pt-br.php>.

GRABBER, J. H. How do lignin composition, structure, and cross-linking affect degradability? A review of cell wall model studies. **Crop Science Society of America,** 2005.

GUZMAN, J. D. Natural cinnamic acids, synthetic derivatives and hybrids with antimicrobial activity. **Molecules,** v. 19, n. 12, p. 19293–19339, 2020.

JIN, W. et al. Efficient extraction of lignin from black liquor via a novel membrane-assisted electrochemical approach. **Electrochimica Acta**, v. 107, p. 611–618, 2013.

JUNG, D. H. et al. Bioconversion of *p*-coumaric acid to p-hydroxystyrene using phenolic acid decarboxylase from *B. amyloliquefaciens* in biphasic reaction system. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 97, n. 4, p. 1501–1511, 2013.

JUNG, D. H. et al. Production of *p*-hydroxybenzoic acid from *p*-coumaric acid by *Burkholderia glumae* BGR1. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 113, n. 7, p. 1493–1503, 2016.

JYOTHI, R.; JIMCY, T.; MANOHAR, S. Production of *p*-hydroxybenzoic acid and caffeic acid from *p*-coumaric acid using *Streptomyces caeruleus* MTCC 6638. **Indian Journal of Biotechnology (IJBT)**, v. 17, n. 1, p. 189–192, 2018.

KOUTINAS, A. A. et al. Valorization of industrial waste and by-product streams via fermentation for the production of chemicals and biopolymers. **Chemical Society Reviews**, v. 43, n. 8, p. 2587–2627, 2014.

KUMAR, A.; CHANDRA, R. Ligninolytic enzymes and its mechanisms for degradation of lignocellulosic waste in environment. **Heliyon**, v. 4, n. 1, p. 86–93, 2020.

KUMAR, N.; PRUTHI, V. Potential applications of ferulic acid from natural sources. **Biotechnology Reports**, v. 4, n. 1, p. 86–93, 2014.

LIN, Y.; YAN, Y. Biosynthesis of caffeic acid in *Escherichia coli* using its endogenous hydroxylase complex. **Microbial Cell Factories**, v. 11, n. 1, p. 1–9, 2014.

LINGER, J. G. et al. Lignin valorization through integrated biological funneling and chemical catalysis. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of**

America, v. 111, n. 33, p. 12013–12018, 2014.

LOU, Z. et al. *p*-Coumaric acid kills bacteria through dual damage mechanisms. **Food Control**, v. 25, n. 2, p. 550–554, 2012.

LU, Q. et al. Catalytic fast pyrolysis of alkali-pretreated bagasse for selective preparation of 4-vinylphenol. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 143, p. 104669, 2019.

LUBBERS, R. J. M. et al. A comparison between the homocyclic aromatic metabolic pathways from plant-derived compounds by bacteria and fungi. **Biotechnology Advances,** v. 37, n. 7, p. 107396, 2019.

MATTILA, P.; PIHLAVA, J. M.; HELLSTRÖM, J. Contents of phenolic acids, alkyl- and alkenylresorcinols, and avenanthramides in commercial grain products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 21, p. 8290–8295, 2005.

MENDES, F. M. et al. Alkaline sulfite pretreatment for integrated first and second generation ethanol production: A techno-economic assessment of sugarcane hybrids. **Biomass and Bioenergy**, v. 119, p. 314–321, 2018.

MORAES, F. DE A. B.; PIRATELLI, C. L.; ACHCAR, J. A. Optimal conditions for wood consumption in cellulose production. **Producao**, v. 24, n. 3, p. 712–724, 2014.

MOSHKELANI, M. et al. The forest biorefinery and its implementation in the pulp and paper industry: Energy overview. **Applied Thermal Engineering**, v. 50, n. 2, p. 1427–1436, 2013.

MURKOVIC, M. Phenolic compounds. *In:* ABALOS, E. et al. **Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition**. Londres: Academic Press, 2003, p. 4507–4514.

MUTHUVELU, K. S. et al. Evaluation and characterization of novel sources of sustainable lignocellulosic residues for bioethanol production using ultrasound-assisted alkaline pre-treatment. **Waste Management**, v. 87, p. 368–374, 2019.

PAZ, A. et al. Biotransformation of phenolic compounds by *Bacillus aryabhattai*. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 42, n. 10, p. 1671–1679, 2019.

PEI, K. et al. *p*-Coumaric acid and its conjugates: Dietary sources, pharmacokinetic properties and biological activities. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 96, n. 9, p. 2952–2962, 2016.

PÉREZ, J. et al. Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicellulose and

lignin: An overview. **International Microbiology,** v. 5, n. 2, p. 53-63, 2002.

POLA, L. et al. Characterisation of the wet oxidation of black liquor for its integration in Kraft paper mills. **Chemical Engineering Journal**, v. 405, p. 126610, 2021.

RAGAUSKAS, A. J. et al. Lignin valorization: Improving lignin processing in the biorefinery**. Science**, v. 344, n. 6185, 2014.

RODRIGUEZ, A. et al. Evaluation of bacterial hosts for conversion of lignin-derived *p*-coumaric acid to 4-vinylphenol. **Microbial Cell Factories**, v. 20, n. 1, p. 1–10, 2021.

SACHAN, A. et al. Co-production of caffeic acid and *p*-hydroxybenzoic acid from *p*-coumaric acid by *Streptomyces caeruleus* MTCC 6638. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 71, n. 5, p. 720–727, 2006.

SALGADO, J. M. et al. Bioproduction of 4-vinylphenol from corn cob alkaline hydrolyzate in two-phase extractive fermentation using free or immobilized recombinant *E. coli* expressing pad gene. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 58–59, p. 22–28, 2014.

SARSAIYA, S. et al. Microbial dynamics for lignocellulosic waste bioconversion and its importance with modern circular economy, challenges and future perspectives. **Bioresource Technology**, v. 291, p. 121905, 2019.

PARKAR, S. G.; STEVENSON, D. E.; SKINNER, M. A. The potential influence of fruit polyphenols on colonic microflora and human gut health. **International journal of food microbiology**, v. 124, n. 3, p. 295–298, 2008.

SHEN, X. H.; ZHOU, N. Y.; LIU, S. J. Degradation and assimilation of aromatic compounds by *Corynebacterium glutamicum*: Another potential for applications for this bacterium?. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 95, n. 1, p. 77–89, 2012.

SIMPSON, C. J.; FITZHENRY, M. J.; STAMFORD, N. P. J. Preparation of vinylphenols from 2- and 4-hydroxybenzaldehydes. **Tetrahedron Letters**, v. 46, n. 40, p. 6893–6896, 2005.

SINHA, A. K.; SHARMA, A.; JOSHI, B. P. One-pot two-step synthesis of 4-vinylphenols from 4-hydroxy substituted benzaldehydes under microwave irradiation: a new perspective on the classical Knoevenagel-Doebner reaction. **Tetrahedron**, v. 63, n. 4, p. 960–965, 2007.

SUN, S. et al. The role of pretreatment in improving the enzymatic hydrolysis of lignocellulosic materials. **Bioresource Technology,** v. 199, p. 49–58, 2016.

SURYADI, H. et al. Biodelignification of lignocellulose using ligninolytic enzymes from white-rot fungi. **Heliyon**, v. 8, p. e08865, 2022.

TORRES Y TORRES, J. L.; ROSAZZA, J. P. N. Microbial transformations of *p*-coumaric acid by *Bacillus megaterium* and *Curvularia lunata*. **Journal of Natural Products**, v. 64, n. 11, p. 1408–1414, 2001.

TUCK, C. O. et al. Valorization of biomass: Deriving more value from waste. **Science**, v. 337, n. 6095, p. 695–699, 2012.

VUOLO, M. M.; LIMA, V. S.; MARÓSTICA JUNIOR, M. R. Phenolic compounds: structure, classification, and antioxidant power. *In*: CAMPOS, M. R. S. **Bioactive compounds: Health benefits and potential applications**. Cambridge: Woodhead publishing, 2018, p. 33–50.

W. VERMERRIS, NICHOLSON, R. **Phenolic Compound Biochemistry**. 1. ed. Amsterdã: Springer, 2009. p. 3–6.

WAGLE, A. et al. Multi-stage pre-treatment of lignocellulosic biomass for multi-product biorefinery: A review. **Sustainable Energy Technologies and Assessments**, v. 49, p. 101702, 2022.

WANG, T. YANG; LI, Q.; BI, K. SHUN. Bioactive flavonoids in medicinal plants: Structure, activity and biological fate. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 13, n. 1, p. 12–23, 2018.

WITHERS, S. et al. Identification of grass-specific enzyme that acylates monolignols with *p*-coumarate. **Journal of Biological Chemistry**, v. 287, n. 11, p. 8347–8355, 2012.

ZEVALLOS TORRES, L. A. et al. Lignin as a potential source of high-added value compounds: A review. **Journal of Cleaner Production**, v. 263, p. 121499, 2020.

ZHANG, Y. H. P. Reviving the carbohydrate economy via multi-product lignocellulose biorefineries. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 35, n. 5, p. 367–375, 2008.