

**CAMILA JULIANE MARCONDES**

**Biorrefinaria para produção de furfural, lignina e etanol através da polpação soda  
com pré-hidrólise da madeira de eucalipto urograndis**

Guaratinguetá - SP

2019

**Camila Juliane Marcondes**

**Biorrefinaria para produção de furfural, lignina e etanol através da polpação soda  
com pré-hidrólise da madeira de eucalipto urograndis**

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia do Campus de Guaratinguetá, Universidade Estadual Paulista, para obtenção do título de Mestre em Engenharia Mecânica na Área de Materiais Lignocelulósicos.

Orientador: Prof. Dr. Gustavo Ventorim.

Guaratinguetá - SP

2019

Marcondes, Camila Juliane  
M321B Biorrefinaria para produção de furfural, lignina e etanol através da polpação soda com pré-hidrólise da madeira de eucalipto urograndis / Camila Juliane Marcondes – Guaratinguetá, 2019.  
73 f : il.  
Bibliografia: f. 66-73

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Engenharia de Guaratinguetá, 2019.  
Orientador: Prof. Dr. Gustavo Venterim

1. Biocombustíveis. 2. Etanol. 3. Celulose. I. Título

CDU 620.91(043)


Luciana Máximo  
Bibliotecária/CRB-8 3595

*CAMILA JULIANE MARCONDES*

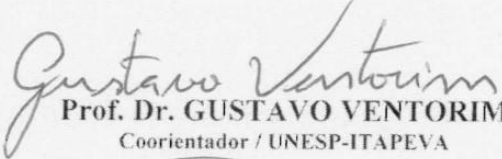
ESTA DISSERTAÇÃO FOI JULGADA ADEQUADA PARA A OBTENÇÃO DO TÍTULO DE  
"MESTRE EM ENGENHARIA MECÂNICA"

PROGRAMA: ENGENHARIA MECÂNICA  
CURSO: MESTRADO

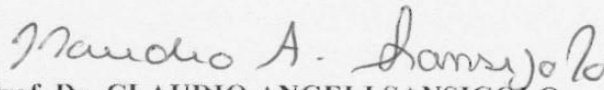
APROVADA EM SUA FORMA FINAL PELO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO

  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Ivonete Ávila  
Coordenadora

*BANCA EXAMINADORA:*

  
Prof. Dr. GUSTAVO VENTORIM  
Coorientador / UNESP-ITAPEVA

  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> CRISTIANE INACIO DE CAMPOS  
UNESP/ITAPEVA

  
Prof. Dr. CLAUDIO ANGELI SANSIGOLO  
UNESP/BOTUCATU

## **DADOS CURRICULARES**

### **CAMILA JULIANE MARCONDES**

<b>NASCIMENTO</b>	24.05.1992– Itapeva / SP
<b>FILIAÇÃO</b>	Waldecir Antonio Correa Marcondes Claucinéia Neves Marcondes
<b>2011/2015</b>	Curso de Graduação em Engenharia Industrial Madeireira na Universidade Estadual Paulista campus de Itapeva
<b>2017/2019</b>	Curso de Pós-Graduação em Engenharia Mecânica, nível de Mestrado, na Faculdade de Engenharia do Campus de Guaratinguetá da Universidade Estadual Paulista.

dedico este trabalho  
à minha família.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus por nunca me desamparar e guiar meus passos até aqui.

Aos meus pais Waldecir e Claucineia, por sempre acreditarem no melhor de mim e me fazerem ser a pessoa que sou hoje. Vocês me dão forças para seguir em frente.

Aos meu irmão, *Bruno* acima de tudo pela amizade que temos acima da relação de irmãos, espero que a gente ainda cresça muito juntos e nunca um desampare o outro.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Gustavo Ventrone, pela orientação neste trabalho e acima de tudo pela amizade que construímos até aqui.

Às colegas Ana, Aline e Nádia sem vocês este trabalho não seria o mesmo, obrigada pela amizade e companheirismo.

Ao *Anderson* do Laboratório de Celulose e Papel do Campus Experimental de Itapeva, pela colaboração e disponibilidade.

À Faculdade de Engenharia de Guaratinguetá e ao Campus Experimental de Itapeva da Universidade Estadual Paulista, que permitiram a realização do curso de pós-graduação.

À *CAPES* pelo suporte financeiro concedido para a realização deste trabalho.

A todos que contribuíram de alguma maneira para que este trabalho acontecesse

Obrigada!

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



“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”.

(Madre Teresa de Calcutá)

## RESUMO

O setor de combustíveis líquidos tem passado por uma constante mudança no cenário econômico mundial. Com a previsão de esgotamento das fontes de combustíveis fósseis, a corrida por novas alternativas se tornou um marco das gerações passadas e futuras. O denominado etanol celulósico produzido através da biomassa pode ser a chave para a questão energética mundial, no entanto, este tipo de produto encontra como barreira o desenvolvimento de tecnologias mais acessíveis e a custos menores. Dentre os materiais utilizados, a madeira pode apresentar vantagens como: baixa perda por degradação, quando estabelecidas rotações silviculturais não está sujeita a sazonalidade, dentre outras. Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo encontrar uma nova rota de produção de etanol celulósico a partir de cavacos de Eucalyptus urograndis e estudar o efeito da dosagem de fermento na etapa de conversão da glicose a etanol. O estudo foi realizado utilizando os processos de auto- hidrólise e polpação soda (23% de álcali ativo), como etapa de pré-tratamento da matéria prima, seguidos então, pela hidrólise ácida com ácido sulfúrico 72% e fermentação com 10, 20 e 30g da levedura *Saccharomyces cerevisiae*. Ao final foram analisados os rendimentos alcançados. O processo de fermentação mostrou uma eficácia de 90,05%, 88,29% e 79,57% para 10, 20 e 30 g, respectivamente, rendimentos ótimos para esta etapa. A utilização de 10 g foi suficiente para a etapa de fermentação frente as outras quantidades (20 e 30 g) sendo estabelecido, assim, a proporção de 1g da levedura para 4,7 g.L<sup>-1</sup>. Como rendimento global do processo a partir de 100 g de cavaco inicial o presente estudo apresentou média de 54,13% de eficiência, valor que quando projetado para 1t demonstra a viabilidade do processo frente a produção a partir da cana-de-açúcar.

**PALAVRAS-CHAVE:** Biorrefinaria. Etanol 2G. Biocombustíveis. Celulose. Polpação Soda.

## ABSTRACT

The liquid fuel industry has been undergoing a constant change in the world economic scenario for years, with the forecast of depletion of fossil fuel sources, the race for new alternatives has become a mark of past and future generations. The so-called cellulosic ethanol produced through biomass may be the key to the world energy issue, however, this type of product finds as a barrier the development of technologies more accessible and at lower cost. Among the materials used, wood can present advantages in terms of low degradation loss, when established silvicultural rotations are not subject to seasonality, among others. In this context, the present work aimed to find a new route for the production of cellulosic ethanol from *Eucalyptus urograndis* chips and to study the effect of yeast dosage on the conversion of glucose to ethanol. The process was carried out using the processes of autohydrolysis and sodium pulping (23% alcohol on the market), as the main process of pre-processing the raw material, followed by acid hydrolysis with 72% sulfuric acid and fermentation with 10, 20 and 30g of yeast *Saccharomyces cerevisiae*, at the end of the harvest. The fermentation process has an advantage of 90.05%, 88.29% and 79.57% for 10, 20 and 30 g, respectively, described as excellent for this stage. The use of 10g was sufficient for a fermentation step compared to other sources (20 and 30g), thus, a ratio of 1g of yeast to 4.7g.L<sup>-1</sup>. As a global result of the 100g initial chip discarding process, the present study presents an average of 54.13% efficiency, a value that when designed for 1t demonstrates a viability of the process against a production of sugarcane.

**KEYWORDS:** Biorefinery. Ethanol 2G. Biofuels. Cellulose. Pulp Soda.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Ciclo integrado da biorrefinaria .....	17
Figura 2 - Histórico da produção de etanol no Brasil em mil metros cúbicos entre 1980 a 2018.....	22
Figura 3 - Relatório estatístico da produção de etanol no mundo.....	23
Figura 4 - Potencial de aproveitamento da celulose .....	26
Figura 5 - Potencial aproveitamento da lignina. ....	27
Figura 6 - Potencial de aproveitamento das hemiceluloses .....	28
Figura 7 - Aplicações do furfural.....	29
Figura 8 - Síntese de outros compostos a partir do ácido levulínico. ....	30
Figura 9 - Esquema do rompimento do complexo lignocelulósico através do pré-tratamento.....	32
Figura 10 - Micrografias Eletrônicas de Varredura (MRV) para folhas de palmeira sem pré-tratamento (A) e submetidas a pré-tratamento, termo-hidrólise (B), ácido (C) e alcalino (D). ....	32
Figura 11 - Clivagem das ligações $\beta$ -1,4 glicosídicas em meio ácido. ....	37
Figura 12 - Origens dos compostos inibitórios na hidrólise e fermentação.....	38
Figura 13 - Representação da atuação das enzimas para degradar a celulose .....	39
Figura 14 - Metabolismo central da produção de etanol a partir da glicose .....	42
Figura 15 - Temperatura de propagação das leveduras alcoólicas.....	46

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Processos de pré-tratamento. ....	33
Tabela 2 - Comparação das diferentes opções para a hidrólise da celulose. ....	39
Tabela 3 - Rendimento ótimo de fermentação de leveduras em condições anaeróbicas	43
Tabela 4 - Condições gerais empregadas na pré-hidrólise.....	49
Tabela 5 - Condições empregadas na polpação soda de cavacos pré-hidrolisados .....	50
Tabela 6 - Caracterização química do cavaco inicial e após pré-tratamento. ....	56
Tabela 7 - Rendimento do processo de polpação.....	58
Tabela 8 - Rendimento real hidrólise ácida para 100 g de polpa celulósica. ....	59
Tabela 9 - Quantidade de compostos inibidores. ....	60
Tabela 10 - Rendimento global do processo para 100g de cavaco. ....	61
Tabela 11 - Rendimento Fermentação para 100g de polpa.....	62

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>14</b>
2	OBJETIVOS .....	16
2.1	OBJETIVOS ESPECIFICOS .....	16
<b>3</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>17</b>
3.1	CONCEITO DE BIORREFINARIA .....	17
3.2	ETANOL.....	19
<b>3.2.1</b>	<b>Etanol no Brasil .....</b>	<b>20</b>
3.3	CLASSIFICAÇÃO DAS BIORREFINARIAS .....	24
3.4	BIOPRODUTOS A PARTIR DOS CONSTITUINTES LIGNOCELULÓSICO	25
<b>3.4.1</b>	<b>Celulose.....</b>	<b>25</b>
<b>3.4.2</b>	<b>Lignina.....</b>	<b>26</b>
<b>3.4.3</b>	<b>Hemiceluloses.....</b>	<b>28</b>
3.5	PROCESSO DE PRODUÇÃO DE BIOETANOL .....	31
<b>3.5.1</b>	<b>Pré-tratamento .....</b>	<b>31</b>
3.5.1.1	Processo de polpação .....	35
<b>3.5.2</b>	<b>Hidrólise ácida e enzimática.....</b>	<b>36</b>
<b>3.5.3</b>	<b>Fermentação .....</b>	<b>40</b>
3.5.3.1	Temperatura .....	45
3.5.3.2	pH.....	46
3.5.3.3	Concentração de Etanol .....	47
3.5.3.4	Nutrientes .....	47
<b>3.5.4</b>	<b>Destilação .....</b>	<b>48</b>
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E METODOS.....</b>	<b>49</b>
4.1	MATERIAL .....	49
4.2	MÉTODOS .....	49
<b>4.2.1</b>	<b>Pré-tratamento .....</b>	<b>49</b>
4.2.1.1	Pré-hidrólise .....	49
4.2.1.2	Polpação Soda.....	50
4.2.1.3	Teor de Holocelulose .....	50
4.2.1.4	Lignina Klason.....	50
<b>4.2.2</b>	<b>Furfural.....</b>	<b>51</b>

<b>4.2.3</b>	<b>Hidrólise Ácida</b> .....	<b>51</b>
<b>4.2.4</b>	<b>Fermentação</b> .....	<b>52</b>
<b>4.2.5</b>	<b>Análise de cromatografia líquida de alta eficiência – HPLC</b> .....	<b>52</b>
<b>4.2.6</b>	<b>Rendimentos</b> .....	<b>53</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>55</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>65</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>66</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O cenário atual energético mundial é marcado por dependência dos combustíveis fósseis como carvão, gás e petróleo e, assim, também pelas decisões dos poucos países que integram a Organização dos Países Exportadores de Petróleo (OPEP), o que eleva seus preços. O preço crescente associado a previsão do esgotamento das reservas de combustíveis fósseis, já que são recursos finitos, e a ambição da indústria de celulose e papel de ampliar o portfólio para além da produção da *commodity* impulsionam a busca dos países e empresas por novas alternativas (BORGES; TRIERWEILER, 2009; MARTIN, 2013). Segundo Vaz Junior (2011) verifica-se a necessidade de maior segurança energética em um mercado no qual a demanda está crescendo e a oferta é limitada. Esta pressão sobre a oferta mundial de petróleo é esperada à medida que os países em desenvolvimento se tornam mais industrializados e usam mais energia, fazendo com que qualquer redução na disponibilidade atual de petróleo e seus derivados possa levar a uma crise mundial de combustíveis (U.S DOE, 2006). Somando-se a isso a crescente preocupação com os problemas ocasionados pela queima dos combustíveis fósseis, tem despertado grande interesse ao longo dos anos por alternativas que reduzam o consumo desenfreado do petróleo e emitam menos compostos tóxicos à atmosfera que estão diretamente ligados ao aquecimento global (RODRIGUES, 2011).

Segundo Alvim et al. (2014) faz-se necessária a alteração da matriz energética mundial por uma mais limpa, renovável e sustentável, para isto é necessário o desenvolvimento de novas cultivares além de técnicas e tecnologias para o uso das mesmas visando altos rendimentos e baixos custos. Desta forma, na busca por independência energética, inovações tecnológicas e preservação do meio ambiente vem crescendo a utilização de novas matérias-primas para o desenvolvimento dos combustíveis alternativos, os biocombustíveis (MAGALHÃES, 2011). O termo biocombustível refere-se a combustíveis líquidos ou gasosos com aplicação no setor de transporte e, predominantemente, produzidos de biomassa. Na forma líquida incluem, por exemplo, o metanol, etanol, butanol e o biodiesel, podendo ser utilizados em veículos, locomotivas, motores elétricos, turbinas ou células a combustível. Já na forma gasosa, compreendem os gases hidrogênio e metano (DEMIRBAS, 2008). Dentre os principais combustíveis produzidos a partir destes recursos naturais, pode-se destacar o etanol (FERREIRA, 2015).

Tecnicamente, etanol pode ser produzido a partir de uma ampla variedade de matérias primas, as quais são classificadas em três categorias principais: (1) aquelas que contêm



quantidades consideráveis de açúcares prontamente fermentescíveis (cana-de-açúcar, beterraba, sorgo sacarino); (2) matéria-prima amilácea (milho, batata, arroz, trigo) e (3) matéria prima lignocelulósica (bagaço e palha de cana-de-açúcar, madeira, sabugo de milho, etc) sendo a grande diferença entre estas matérias-primas a etapa de obtenção dos açúcares fermentescíveis (FARIAS, 2014). As utilizações das categorias 1 e 2 apresentam como limitações a expansão necessária de área plantada e discussões quanto a sua disponibilidade para a produção do combustível já que também são utilizadas como fonte de alimentos. Para Runge e Senauer:

Encher o tanque de um utilitário esportivo (95 litros) com etanol puro exigiria mais de 200 quilos de milho, um volume de cereal que contém calorias suficientes para alimentar uma pessoa por um ano. Ao pressionar a oferta mundial de safras comestíveis, a alta na produção de etanol se traduzirá em preços mais elevados tanto para os alimentos industrializados quanto para os básicos, em todo o mundo. Os biocombustíveis terminaram por amarrar os preços da comida e os do petróleo de uma maneira que pode perturbar, profundamente, o relacionamento entre produtores e consumidores de alimentos, e entre as nações, nos próximos anos, o que acarreta implicações potencialmente devastadoras tanto para a pobreza no mundo quanto para a segurança alimentar. (RUNGE; SENAUER, 2007, p. 30)

É nesse contexto que a produção florestal e biorrefinarias emergem como alternativa importante para a ampliação da produção de etanol (SILVA JUNIOR, 2008). Runge e Senauer (2007), destacaram que muitos pesquisadores apostavam que o setor de etanol passaria a recorrer mais a gramíneas, árvores e resíduos de plantas alimentícias, como o trigo, o arroz e o milho, além de salientar que gramíneas e árvores podem ser cultivadas em terra pouco adequada a safras alimentícias, ou em climas hostis ao milho e à soja. Badger (2002) já cita os vários esforços que estavam sendo feitos na América do Norte para produzir comercialmente etanol a partir de madeira e outros materiais celulósicos como produto primário. Pitarello (2013) cita a soma de esforços entre governos, indústrias e instituições de pesquisa voltados para o desenvolvimento de tecnologias que permitam o aproveitamento de diferentes fontes de biomassa vegetal para a produção de etanol celulósico em escala comercial de modo a atender a expansão da demanda deste combustível, sem contudo, aumentar a área plantada das culturas tradicionais (otimização dos recursos) ideia central da biorrefinaria.

Assim, o presente trabalho tem como objetivo desenvolver um novo método (a utilização de um pré-tratamento alcalino, a polpação soda) para a conversão da madeira a etanol bem como analisar a influência da concentração do fermento neste processo a partir de uma polpação soda já que a fermentação da biomassa celulósica em etanol pode oferecer vantagens importantes em termos de maior produtividade e custos mais baixos.

## 2 OBJETIVOS

Desenvolver um novo método a utilização de um pré-tratamento alcalino - polpação soda para o processo de conversão da madeira de *Eucalyptus urograndis* à etanol, bem como avaliar a influência da concentração de fermento neste processo.

### 2.1 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Obter o rendimento global do processo de conversão dos cavacos de madeira à etanol, bem como das etapas de hidrólise ácida e fermentação.

- Analisar se o procedimento desenvolvido é viável frente aos outros materiais utilizados nos dias atuais para produção do combustível

-Verificar a variação de rendimentos com a mudança da quantidade de fermento utilizada.

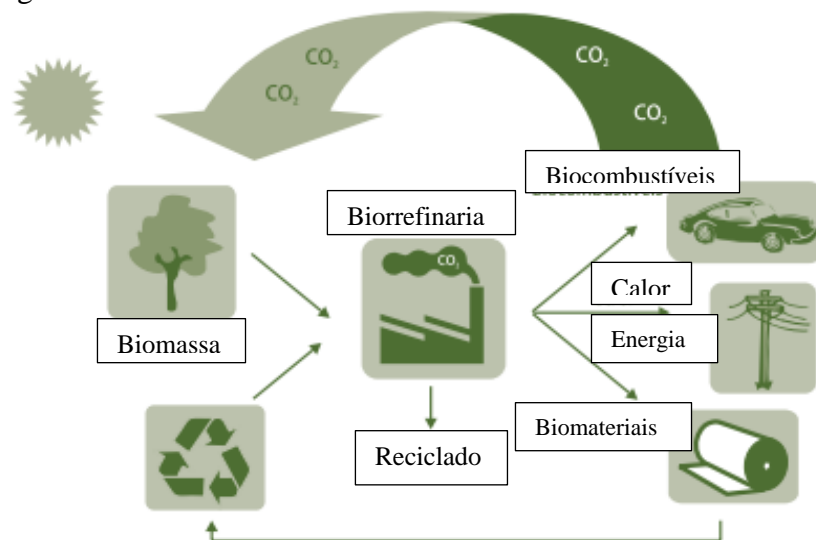
- Fazer análise econômica da produção de furfural, lignina e etanol pelo novo método.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 CONCEITO DE BIORREFINARIA

Uma biorrefinaria é uma unidade industrial que integra equipamento e processos de conversão de biomassa na produção de combustíveis. Tal conceito de biorrefinaria tem ganhado relevância mundial, em virtude da utilização total da biomassa bem como da energia nela contida e, também, pela integração de processos tradicionais de conversão (bioquímicas, químicas e termoquímicas), o que possibilita a produção não somente de combustíveis e energia, mas também de produtos químicos e de outros tipos de materiais. Especialistas acreditam que as biorrefinarias possam vir a constituir uma indústria-chave do século XXI, responsável até mesmo por uma nova revolução industrial, em virtude da importância das tecnologias que empregam e dos efeitos sobre o paradigma industrial (KAMM et al., 2005; SOUZA; SCHULTZ; DAMASO, 2015). Segundo Tatoni (2012) a biorrefinaria tem capacidade de promover um crescimento econômico sustentável e uma transformação das economias rurais, pois introduzem uma grande quantidade de bioprodutos no mercado, transformando resíduos em eletricidade, materiais e combustíveis conforme Figura 1.

Figura 1- Ciclo integrado da biorrefinaria.



Fonte: BNDS e CGEE (2008).

Para Pacheco (2011) existem duas possibilidades para o aperfeiçoamento da produção de etanol, que do ponto de vista de processamento industrial, pode se dar de duas formas: por

aperfeiçoamentos das tecnologias para produção de etanol de primeira geração (1G), a partir da sacarose da cana; ou pelo desenvolvimento científico e tecnológico de produção do etanol de segunda geração (2G), ou etanol lignocelulósico, produzido a partir da conversão da celulose e hemiceluloses em etanol. Entretanto, para evitar que se atinja o limite da oferta ou venha a ocorrer a competição pelo uso da terra para a produção de biocombustíveis e de alimentos, é necessário investir no desenvolvimento de tecnologias de segunda geração para produção de etanol.

Os combustíveis derivados da biomassa celulósica - as porções fibrosas, lenhosas e geralmente não comestíveis da matéria vegetal oferecem uma tal alternativa às fontes convencionais de energia que podem impactar dramaticamente o crescimento econômico nacional, a segurança energética e os objetivos ambientais. Com o desenvolvimento de combustíveis de segunda geração, espera-se que o uso de biomassa em complexos da biorrefinaria assegure um benefício ambiental adicional e dê maior segurança energética, graças à coprodução tanto de bioenergia como de produtos químicos mais valiosos (HOFFMANN, 2006). Neste cenário, grande atenção tem sido dada à celulose, principal polímero natural existente na natureza. A biomassa celulósica é uma fonte de energia atraente pois é uma fonte abundante e renovável que pode ser convertida em combustíveis (biocombustíveis) que podem ser usados prontamente por veículos da geração atual e distribuídos pela infra-estrutura de combustível de transporte existente ou bioprodutos, como químicos, polímeros e demais materiais (MARTIN, 2013; RODRIGUES, 2011). Dentro desta classe de materiais as principais biomassas que estão sendo foco das pesquisas e dos potenciais investidores da bioeconomia são: florestas plantadas de rápido crescimento; florestas naturais de manejo comercial; culturas agrícolas; Algas; resíduos municipais e industriais de natureza orgânica; gramíneas de rápido crescimento.

Destaca-se o interesse na biomassa florestal como matéria-prima para as biorrefinarias no Brasil em função de: (i) as florestas brasileiras serem certificadas como cultivos sustentáveis, muitas vezes realizados em áreas degradadas, o que significa que competem muito pouco por terras destinadas aos cultivos agrícolas de alimentos; e (ii) os produtos florestais não estarem sujeitos a influências sazonais e poderem ser colhidos durante o ano todo com elevada produtividade (FOELKEL, 2016). De acordo com Colodette (2012) a madeira desponta com grande potencial produtivo, verifica-se que 1 hectare de madeira produz 9500L de etanol em comparação a 3400L do milho e 8000L da cana de açúcar. Além disso apresenta rotação multianual com menor área plantada por ano, períodos longos com poucos distúrbios na

plantação (fertilização, irrigação, colheita), colheita durante o ano todo, baixa perda por degradação, baixo custo de armazenamento e sistema de colheita, produção e transporte já muito bem estabelecido. Ainda, segundo Rodigueri (1997) contribuem para redução da erosão do solo, apresentam menores riscos técnicos de produção e podem ser plantadas juntamente com os sistemas agroflorestais (combinação de cultivos simultâneos e sequenciais de espécies arbóreas nativas e/ou introduzidas com cultivos agrícolas, hortaliças, fruteiras, criação de animais, etc.) produzindo alimentos e madeira na mesma área. De acordo com Runge e Sanauer (2007) os benefícios dos biocombustíveis são superiores quando outras plantas que não o milho ou óleo de outra fonte, que não a soja, são utilizadas. Etanol inteiramente feito de celulose (encontrada em árvores, gramíneas e outras plantas) emite entre 82% e 85% menos gases de efeito estufa do que a gasolina, uma vez que, o volume de CO<sub>2</sub> emitido pelo etanol é muito menor, pois seu teor de carbono é também muito menor. Enquanto a gasolina libera 8 mol de CO<sub>2</sub> o etanol só libera 2 mol, dando uma grande diferença na emissão de poluentes (DELGADO et al., 2012).

O processo de obtenção de etanol a partir de compostos lignocelulósicos é descrito na literatura como um processo que integra 4 etapas fundamentais: O pré-tratamento, que é feito a fim de remover as hemiceluloses da madeira e tornar a fração de celulose susceptível a hidrólise; a hidrólise enzimática, que utiliza enzimas para realizar a quebra do polissacarídeos; a fermentação, que realiza a fermentação da glicose em etanol; e a destilação para a obtenção do etanol (COHEN, 2010; RABELO, 2011). Verifica-se, no entanto, que a produção de biocombustíveis celulósicos não é econômica usando tecnologias atuais com enzimas, uma das principais barreiras técnicas para sua produção econômica é o alto custo e a baixa eficiência da sacarificação enzimática de celulose da biomassa, sendo muito difícil conseguir sacarificação de celulose quase completa mesmo em cargas de enzimas elevadas e após um longo período de hidrólise (ZHU; SABO; LUO, 2011). No Brasil, os desafios e as estratégias de desenvolvimento das biorrefinarias passam por gargalos técnico-científicos em produção de matérias-primas, processamento industrial e integração de cadeias produtivas regionalizadas (VAZ JUNIOR, 2011).

### 3.2 ETANOL

O etanol é caracterizado como um combustível, que pode ser obtido tanto por meio de processos petroquímicos e carboquímicos quanto pelo uso de biomassa. Entretanto, o etanol

possui algumas características que o diferenciam dos combustíveis convencionais que são derivados do petróleo. Neste sentido, pode-se citar o significativo teor de oxigênio, que constitui aproximadamente 35% em massa do etanol, e sua combustão mais limpa, mesmo quando em mistura com a gasolina.

O etanol, ou álcool etílico, é uma substância com fórmula molecular  $C_2H_5OH$ , que pode ser utilizada como combustível em motores de combustão interna com ignição por centelha (ciclo Otto) de duas maneiras, basicamente: 1) em misturas de gasolina e etanol anidro; ou 2) como etanol hidratado utilizado em carros a álcool ou *flex fuel*, sendo produzido a partir de diferentes matérias-primas, como milho, beterraba ou cana-de-açúcar (BNDS; CGEE, 2008).

O biocombustível resultante da destilação encontra-se na forma hidratada, uma mistura binária álcool-água. Segundo BNDES e CGEE (2008), este etanol alcança um teor de 96° GL (porcentagem em volume), que corresponde a 6% de água em peso devido à formação de uma mistura azeotrópica. O bioetanol hidratado pode ser utilizado como produto final, comercializado nos postos de combustíveis para o abastecimento de carros a álcool ou carros *flex-fuel*, ou ainda pode seguir para o processo de desidratação para a produção de etanol na forma anidra (UNICA, 2007). O etanol anidro possui pelo menos 99,6°GL, e é amplamente utilizado na indústria química como matéria prima para a fabricação dos ésteres e dos éteres, de solventes, tintas e vernizes, de cosméticos, de pulverizadores. Além disso, também é utilizado como aditivo em combustíveis, segundo a Portaria n° 143 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2007), que afirma que toda gasolina vendida no Brasil deve conter 25% de etanol combustível anidro.

### **3.2.1 Etanol no Brasil**

O Brasil é o único país do mundo onde uma grande parte do combustível consumido pelos automóveis é renovável e a maioria dos novos automóveis produzidos pode usar esse combustível renovável: o etanol (HOFFMANN, 2006). Em 1525, apenas 25 anos após a descoberta do Brasil, Martim Afonso de Souza introduziu a cana-de-açúcar no país, produto que despontou um dos mais bem-sucedidos negócios da história brasileira com produtos advindos do setor sucroalcooleiro, ocupando posição de destaque internacional. No entanto alguns adventos fizeram com que a economia açucareira passasse por grandes depressões, tendo como golpe de misericórdia a quebra da bolsa de Nova York de 1929 e a derrocada de toda agricultura brasileira, no início dos anos 1930 (TÁVORA, 2011). Foi então que o etanol

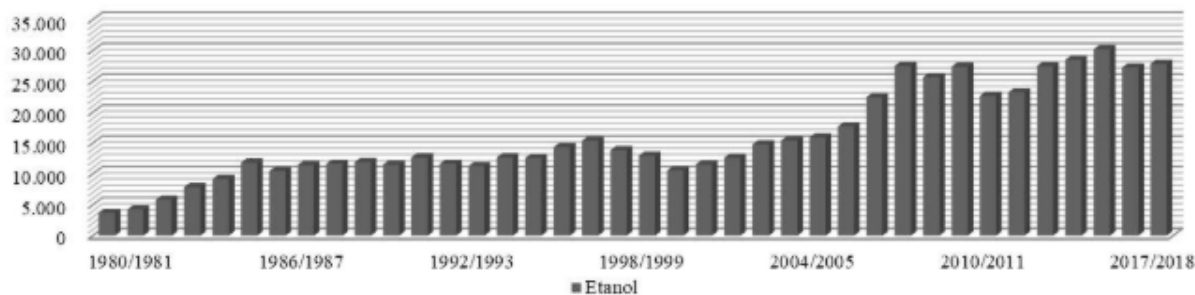
produzido de cana-de-açúcar surgiu, no Brasil, basicamente por duas razões: a necessidade de amenizar as sucessivas crises do setor açucareiro (novas aplicações da cana de açúcar deveriam ser encontradas) e a tentativa de reduzir a dependência do petróleo importado. Nesse sentido, no início do século XX, ocorreram as primeiras ações de introdução do etanol na matriz energética brasileira. Em 1925, surgiu a primeira experiência brasileira com etanol combustível. Em 1933, o governo de Getúlio Vargas criou o Instituto do Açúcar e do Alcool – IAA e, pela Lei nº 737, tornou obrigatória a mistura de etanol na gasolina. Em 1975, foi lançado o Programa Nacional do Alcool (Proálcool), cujo objetivo maior era a redução da dependência nacional em relação ao petróleo importado. Naquele momento, o Brasil importava, aproximadamente, 80% do petróleo consumido, o que correspondia a cerca de 50% da balança comercial (LEITE; CORTEZ, 2007). A produção anual, que estava em torno de 600 milhões de litros, aumentou rapidamente e ultrapassou a meta do programa, de 10,6 bilhões de litros anuais, em menos de dez anos. Com o aumento da produção interna de petróleo e com a queda de seus preços internacionais, o governo perdeu o interesse pelo programa, que passou a navegar à deriva. Os subsídios foram reduzidos e o etanol hidratado perdeu competitividade perante a gasolina; a obrigatoriedade do uso do anidro na mistura com a gasolina e a velha frota de carros a álcool mantiveram o programa vivo, apesar da falta de apoio do governo. Um ponto vital foi a manutenção da infraestrutura de abastecimento — o etanol estava disponível em mais de 90% dos 30 mil postos de combustível instalados no país (LEITE; LEAL, 2007).

Em 2001 o mercado de etanol no Brasil foi totalmente desregulamentado, passando a prevalecer a livre competição entre os produtores. O governo não mais estabelecia preços nem cotas. Felizmente, em 2002 começou uma nova elevação nos preços internacionais do petróleo, e o conseqüente aumento de preço da gasolina, que trouxe de volta o interesse do consumidor pelo carro a álcool — as vendas antes não deslanchavam pelo receio que tinha a população quanto à garantia de abastecimento. Percebendo isso, as montadoras de veículos passaram a trabalhar no desenvolvimento do motor flexível ao combustível (FFV — *Flex Fuel Vehicle*), que poderia operar com gasolina, etanol ou qualquer mistura desses dois combustíveis (LEITE; LEAL, 2007). No Brasil, a produção de automóveis *flex fuel* supera a dos movidos a gasolina desde 2006.

Segundo Pacheco (2011) o mercado consumidor de etanol continuaria crescendo durante um grande período devido: disponibilização crescente de automóveis bicombustíveis, legislações ambientais que obrigam o uso de biocombustíveis em meios de transporte, cumprimento das exigências do Protocolo de Kyoto e a mistura do biocombustível na gasolina.

Assim, tecnologias capazes de melhorar o desempenho da produção no setor tem importância fundamental. Um histórico da produção de etanol no Brasil de 1980 a 2018 foi representado por Única (2018) na Figura 2.

Figura 2 - Histórico da produção de etanol no Brasil em mil metros cúbicos entre 1980 a 2018.



Fonte: Única (2018).

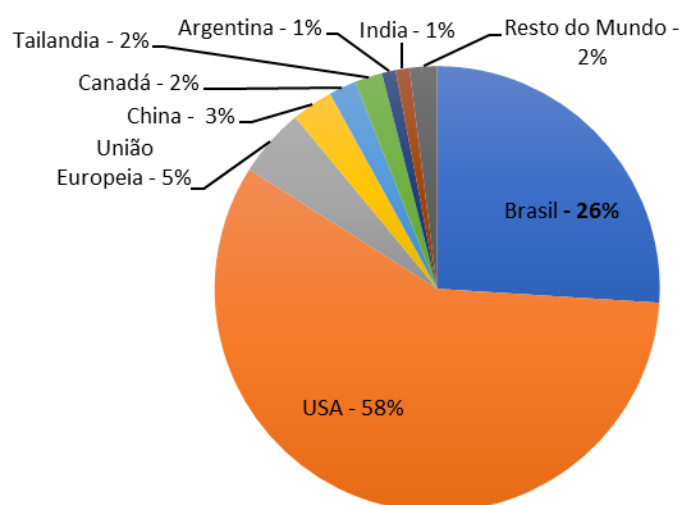
Segundo Franco (2018) em relação à produção de etanol, sua taxa de crescimento será de 4,3% a.a., alcançando 45 bilhões de litros em 2027, sendo a estimativa para o etanol hidratado de 6,8% a.a., enquanto que o anidro (nacional e importado) se mantém no mesmo patamar de 2017 (13 bilhões de litros). No entanto, nos postos de abastecimento de maior parte dos estados, o derivado do petróleo é preferido pela melhor relação custo-benefício considerando o rendimento. Normalmente, o etanol ganha a concorrência apenas nas regiões produtoras, sendo a diversificação de matérias-primas e o seu aproveitamento integral (essência da biorrefinaria) umas das alternativas para expandir os locais de produção e o volume nas regiões em que já é produzido, uma destas possíveis matérias-primas são as espécies florestais (CHIES; PICHELLI, 2015). Os principais estados produtores de etanol no Brasil, por região, são os seguintes: São Paulo (Sudeste), Goiás (Centro-Oeste), Paraná (Sul) e Paraíba (Norte e Nordeste) que, juntos, são responsáveis por cerca de 70% da produção nacional do etanol. Dentre esses, destacam-se os estados de São Paulo, que produz 47,4% da produção nacional, e Goiás, que passou a ocupar o segundo lugar no ranking em produção de etanol no país, com 16,5% do total de etanol produzido no Brasil (UNICA, 2018).

Segundo Souza, Schultz e Damaso (2015) o Brasil é um dos países com maior potencial para aplicação da plataforma tecnológica da biorrefinaria, devido sua extensão territorial, localização privilegiada na região tropical, alta incidência de energia solar, regime pluviométrico e fortalecidos setores agroindustriais e florestal, possibilidade de agregar valor às diversas matérias-primas, coprodutos e resíduos gerados. O Brasil possui uma das melhores



tecnologias para cultivo e exploração de florestas plantadas ocupando em 2018 aproximadamente 7,8 milhões de hectares ocupando apenas 1% do território (IBÁ, 2018). Outra razão importante é o fato de que o Brasil não produz somente para seu mercado interno, mas também para exportação. No cenário global Brasil e Estados Unidos detinham em 2017 mais de 80% da produção mundial de etanol conforme pode-se observar em Figura 3 do relatório estático emitido pelo *Renewable Fuels Association* (RFA) para o ano de 2017.

Figura 3 - Relatório estatístico da produção de etanol no mundo.



Fonte: Adaptado RFA (2017).

No Brasil produção de etanol para 2018 foi de 30,755 bilhões de litros, um aumento de 9% em comparação com o valor revisado para 2017.

Quanto a utilização do etanol 2G, o Brasil possui duas usinas de produção de etanol 2G. A primeira chamada de Bioflex 1 implantada em 2014, trata-se de uma unidade industrial da empresa GranBio e encontra-se instalada no município de São Miguel dos Campos, Alagoas. (GRANBIO, 2017). A segunda da empresa Raízen inaugurou em 2015, a Unidade Costa Pinto, em Piracicaba (SP). Entretanto, a situação destas usinas ainda não é a mais favorável possível, uma vez que o avanço do planejamento montado após o início da produção do etanol 2G tem apresentado atrasos devido a problemas tecnológicos e à crise econômica, porém, mesmo com o fato de que até 2017 o etanol de segunda geração não possuía um volume de produção significativo, as empresas disseram acreditar que o aproveitamento da biomassa continua sendo uma opção para mudar o futuro do setor sucroenergético (NOVACANA, 2014).

### 3.3 CLASSIFICAÇÃO DAS BIORREFINARIAS

As biorrefinarias podem surgir de maneira integrada a outras indústrias já existentes, que utilizam potenciais coprodutos e resíduos de seus processos convencionais para a geração de novos produtos, que possuem valor agregado junto às cadeias produtivas de biomassa ou autônomas, ou seja, são projetadas para operarem de forma independente de outras indústrias (TARGUETA, 2017).

As biorrefinarias autônomas podem ser classificadas segundo Alvim (2014), Cherubini et al. (2009) e IEA (2009) de acordo com o tipo de plataforma utilizada, os tipos de produtos a serem produzidos, a matéria prima utilizada e processos de conversão. As plataformas são elementos intermediários obtidos da matéria prima e que geram uma gama de produtos na biorrefinaria, fazem a conexão entre a matéria-prima e os produtos finais como: Açúcar C6 (por exemplo, glicose, frutose, galactose:  $C_6H_{12}O_6$ ), a partir da hidrólise da sacarose, amido, celulose e hemiceluloses e açúcar C5 (por exemplo, xilose, arabinose:  $C_5H_{10}O_5$ ), a partir da hidrólise de hemiceluloses. Dentre os principais fatores de separação pode-se citar agrupamento dos produtos em dois grupos principais: os produtos energéticos (bioetanol, biodiesel e combustíveis sintéticos) onde a biorrefinaria está direcionada para produção de energia sendo os demais produtos vendidos ou modificados para geração de bioprodutos e a dos materiais (químicos, alimentos, ração, etc.) onde o foco encontra-se na obtenção dos bioprodutos. As matérias-primas podem ser obtidas de culturas específicas (cana-de-açúcar, milho, madeira, etc) ou ainda de resíduos (agroindústrias, florestais ou industriais). Quanto aos processos de conversão, estes podem ser bioquímicos (fermentação e conversão enzimática), termoquímicos (pirólise e gaseificação), químicos (hidrólise ácida, transesterificação, etc.) e mecânicos (fracionamento, pressão, etc.).

Fica evidente que o conceito de biorefinaria é muito abrangente e engloba todas as vertentes de uso da biomassa. Desta forma, tendo em vista estas possibilidades, diversas classificações são possíveis, na literatura é possível encontrar essas diversas divisões, as quais segundo Van Ree e Annevelink (2007), podem ser classificadas em sete categorias:

– Biorrefinarias convencionais ou *Convencional biorefineries* (CBR): utilizam as tecnologias tradicionais para processamento da biomassa obtendo os diferentes subprodutos. As atuais usinas de açúcar e etanol, indústrias de papel e celulose, complexo da soja, usinas de milho podem ser exemplos de CBR; –

- Biorrefinarias Verdes ou *Green Biorefineries* (GBR): utilizam biomassa fresca e, através de processos de pressurização da biomassa úmida, aproveitam o caldo e a torta. É mais estudada para gramíneas;
- Biorrefinarias de Cereais ou *Whole Crop Biorefineries* (WCBR): utilizam cereais como milho, trigo, e centeio para a produção de um portfólio de produtos;
- Biorrefinarias de Lignocelulose ou *Ligno Cellulosic Feedstock Biorefineries* (LCFBR): baseiam-se no fracionamento de biomassa rica em lignocelulósicos para a produção de correntes intermediárias de celulose, hemiceluloses e lignina, que podem ser posteriormente processadas para obtenção de um portfólio de produtos finais;
- Biorrefinarias de Duas Plataformas ou *Two Platform Concept Biorefineries* (TPCBR): promovem o fracionamento da biomassa em frações de açúcares (celulose e hemiceluloses) e lignina. A fração de carboidratos é bioquimicamente convertida através da chamada “Plataforma de Açúcar”, produzindo um portfólio de potenciais bioprodutos, enquanto a fração de lignina e os resíduos do processo bioquímico serão termoquimicamente convertidos a gás de síntese através da chamada “Plataforma de Gás de Síntese”, produzindo uma gama de produtos biobaseados, incluindo calor e energia para satisfazer as demandas internas do processo;
- Biorrefinarias Termoquímicas ou *Thermo Chemical Biorefineries* (TCBR): utilizam processos térmicos como a pirólise e a gaseificação para gerar um grande portfólio de produtos. A partir da geração do gás de síntese é possível gerar produtos como ureia, metanol, amônia, diesel, etc. Essa rota pode ter sinergias com os combustíveis fósseis;
- Biorrefinarias Aquáticas ou *Marine Biorefineries* (MBR): realizam o processamento de biomassa aquática, como as micro e macroalgas.

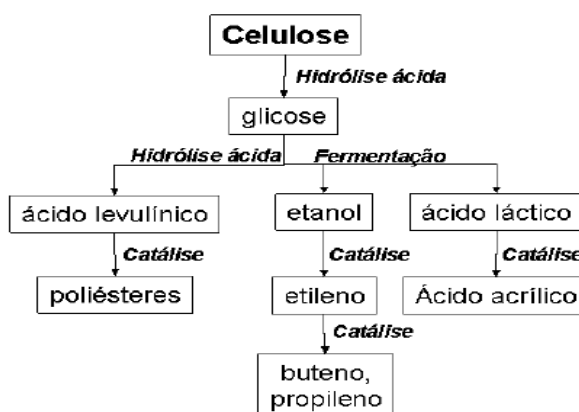
### 3.4 BIOPRODUTOS A PARTIR DOS CONSTITUINTES LIGNOCELULÓSICOS

#### 3.4.1 Celulose

A indústria de papel e celulose pode ser vista como uma produtora de multiprodutos: geradora de energia elétrica, vapor e produtos químicos (fracionamento do licor negro) e os produtos finais (polpa celulósica e papel). Verifica-se, no entanto, que com a aplicação do conceito de biorrefinaria florestal permite-se uma diversificação ainda maior da produção devido utilização de todo o complexo da biomassa, lignina, celulose e hemiceluloses, existindo diversos produtos intermediários microbianos e químicos industrialmente relevantes que são

acessíveis a partir da glicose (BORGES; TRIEWEILER, 2009). Segundo Lora e Venturi (2012) da glicose é possível a obtenção de uma série de produtos com alto valor agregado, ao mesmo tempo os produtos obtidos a partir da fermentação da glicose servem como plataforma para a obtenção de outros, conforme Figura 4. Em função do tipo de biorrefinaria que se utilize e da matéria-prima utilizada como insumo, é possível obter uma série de combustíveis, compostos químicos e materiais precursores necessários para a produção de tintas, solventes, fibras sintéticas, plásticos entre outros como: etileno, propeno, buteno, propileno, ácidos acrílicos, poliéster. Sendo assim, a molécula de celulose tem enorme valor comercial para diferentes setores industriais.

Figura 4 - Potencial de aproveitamento da celulose



Fonte: Cardoso (2009).

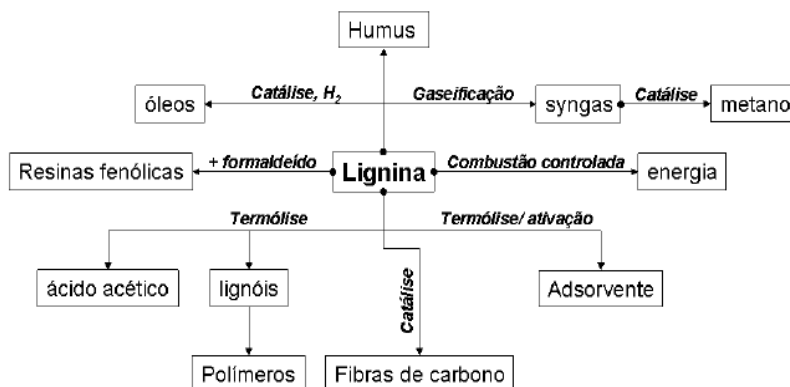
### 3.4.2 Lignina

Além da glicose a utilização dos materiais lignocelulósicos como insumos nas biorrefinarias leva a produção de grandes quantidades de lignina residual, assim deve-se considerar a maneira na qual ela poderá ser mais bem aproveitada.

Atualmente a lignina é utilizada principalmente para a produção de calor pelo processo de combustão realizada para recuperar a energia e / ou calor para reciclagem no sistema. Embora cerca de 40% da lignina seca após a produção de etanol seja empregada para exigência térmica da produção de etanol, os 60% restantes podem ser utilizados como matéria-prima para biogasolina, diesel verde ou para produção de outros produtos (BACOVSKY et al, 2012). Por processos químicos, como hidroxigenação, podem-se obter produtos químicos e combustíveis como fibra de carbono, adesivos e resinas, e principalmente precursores fenólicos

como fenol, vanilol (SOUZA; SCHULTZ; DAMASO, 2015), conforme pode-se observar na Figura 5 de Cardoso (2009). Além disso, esta pode ser utilizada como fonte de carbono pelo processo de gaseificação e para a obtenção de gás de síntese, o qual por sua vez pode ser transformado em metanol, dimetil éter e álcoois misturados (LORA; VENTURINI, 2012)

Figura 5 - Potencial aproveitamento da lignina.



Fonte: Cardoso (2009)

Não há nenhum procedimento conhecido que permita a obtenção da lignina tal e como ela se encontra no vegetal (protolignina) já que sempre há interferência entre o procedimento de isolamento e a estrutura da lignina. Os processos existentes para a obtenção de ligninas são: extração, isolamento como resíduo e isolamento como derivado, sendo que a integração da corrente de lignina nos processos de biorrefinaria, para obtenção de produtos de alto valor agregado, exige a determinação da melhor relação custo-eficiência nos métodos de separação da lignina (LORA; VENTURI, 2012). Em termos de lignina como derivado do processo de polpação (licor negro), dois processos possibilitam sua recuperação: a precipitação ácida e a ultrafiltração, sendo o primeiro considerado apropriado para a extração a partir do licor proveniente de indústrias que utilizam o processo kraft de polpação (LOUTFI; BLACKWELL, 1990<sup>1</sup> apud BONFATTI JUNIOR; LOPES; LENGOWSKI, 2017). O processo de precipitação ácida é baseado no fato de que a solubilidade da lignina diminui com a diminuição do pH, a partir da protonização dos grupos fenólicos da molécula de lignina (JUNIOR; LOPES; LENGOWSKI, 2017).

<sup>1</sup> LOUTFI, H.; BLACKWELL, B. Lignin recovery from kraft black liquor: preliminary process design. **TAPPI Proceedings**. Pulping Conference, 1990. p.467-478 apud BONFATTI JÚNIOR, E. A.; LOPES, M. S.; LENGOWSKI, E. C. **Polpa e Papel: Biorrefinaria**. Disponível em: <<https://even3.azureedge.net/anais/59442.pdf>>. Acesso em: 26 ago. 2018.

A lignina de acordo com Bacovsky et al (2012) devido à sua alta capacidade de reatividade e ligação, também pode ser amplamente utilizada em mistura com outros materiais para melhorar as suas propriedades e ter algumas destas possíveis aplicações listadas abaixo:

- Lignina pode ser adicionada a resinas para formulação de adesivos, filmes, plásticos, tintas, revestimentos e espumas.

- A mistura de lignina com alguns tipos de polímeros melhora a resistência mecânica, estabilidade térmica e resistência à radiação UV, o que é uma aplicação promissora em particular na indústria plástica.

- Em embalagens de alimentos e aplicações médicas, a lignina reduz a permeabilidade em relação aos gases (dióxido de carbono, oxigênio) e água e leva a uma menor taxa de degradação e inflamabilidade.

- No caso de resinas à base de PVC e formaldeído, materiais plastificados de lignina, apresentam menos toxicidade, sendo assim, muito apreciada nos negócios alimentares e farmacêuticos.

- A adição de lignina melhora o comportamento mecânico dos produtos derivados da borracha e das lamas de perfuração bem como as características físicas da alimentação animal, pesticidas e fertilizantes, e controle de poeira e recuperação de óleo.

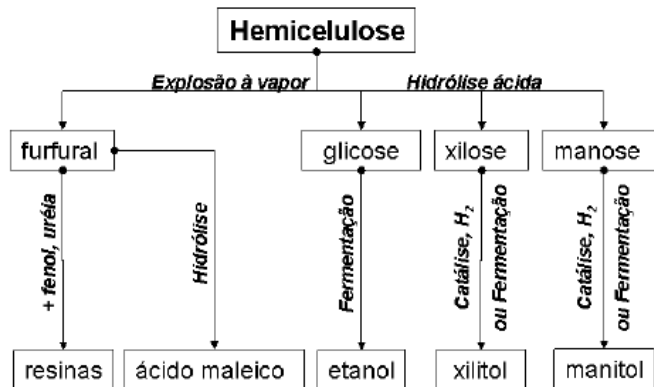
- Devido à sua capacidade de reagir com proteínas, a lignina é utilizada na fabricação de produtos de limpeza, negro de fumo, tintas, pigmentos e corantes, bem como na produção de tijolos e laboratórios de cerâmica e minerais.

Por outro lado, a complexidade da estrutura de lignina permite a obtenção de muitos produtos derivados da despolimerização. A despolimerização produz principalmente BTX (benzeno, tolueno e xileno) que podem ser modificados. Além disso, outras moléculas menores são adquiridas, como fenóis e compostos de menor peso molecular, dos quais estes não podem ser criados através da via petroquímica convencional. Todos esses produtos químicos podem ser utilizados para muitas aplicações diferentes na indústria química (equipamentos elétricos, farmacêuticos, plásticos, policarbonatos, têxteis, etc.). No entanto, como não existe uma técnica de despolimerização seletiva da lignina, o que controla as características qualitativas e quantitativas dos produtos é um desafio considerável a ser enfrentado (BACOVSKY et al, 2012).

### **3.4.3 Hemiceluloses**

Outro constituinte dos materiais lignocelulósicos, a fração hemicelulósica, rica em pentoses, pode ser utilizada para produção de uma gama substâncias, como xilitol/arabinol e ácidos itacônico, levulínico e glutâmico (SOUZA, SCHULTZ; DAMASO, 2015), conforme pode-se observar na Figura 6 do trabalho de Cardoso (2009).

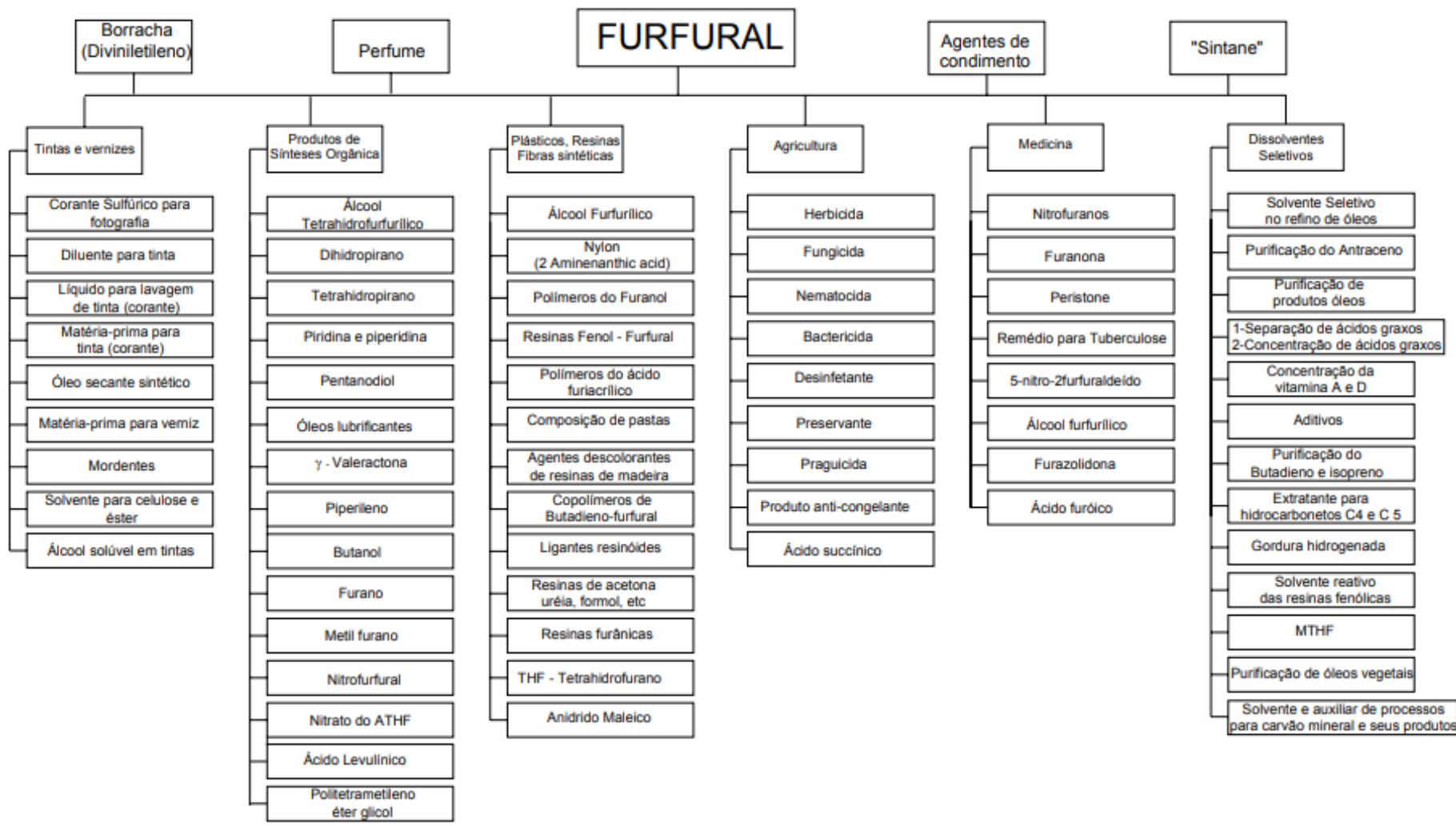
Figura 6 - Potencial de aproveitamento das hemiceluloses



Fonte: Cardoso (2009).

Também, uma das principais substâncias obtida a partir da fração hemicelulósica é o furfural, cujas principais aplicações estão na fabricação de resinas e como solvente para refinação de óleos lubrificantes, outras possíveis aplicações inúmeras possíveis aplicações (LORA; VENTURI, 2012), conforme Figura 7. Furfural é exclusivamente produzido a partir de material lignocelulósico por desidratação com ácido sulfúrico ou clorídrico das pentoses (principalmente a xilose) que está presente em quantidades significativas na hemiceluloses. A tecnologia industrial para a produção de furfural tem reatores batelada e contínuos onde a fração da hemiceluloses de material lignocelulósico é convertida em monossacarídeos (pentoses) por hidrólise ácida. A matéria-prima é enviada a um digestor e misturada com uma solução aquosa de ácidos inorgânicos. O sistema é mantido a temperatura desejada pela injeção de vapor para o digestor. Do reator a mistura reacional passa por um flash para minimizar a perda de furfural através de reações secundárias de degradação e condensação, depois é recuperado em uma série de colunas de destilação (RODRIGUES, 2007).

Figura 7 - Aplicações do furfural.



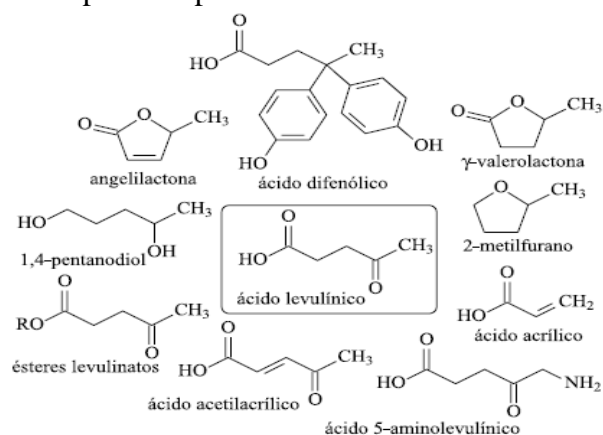
Fonte: Rodrigues (2007).



Cerca de 20% da composição da madeira são hemiceluloses, após o cozimento apenas cerca de 10% seguem com a pasta para a produção de papel, os restantes seguem com o licor negro (GASPAR; FERNANDES, 2013). Engelberth et al. (2012)<sup>2</sup> apud Morgante, Benturi e Miranda (2015) sugere que a extração seletiva da hemiceluloses deve ser feita antes da etapa de polpação para seu uso, na forma monomérica após hidrólise, como substrato a obtenção dos produtos de maior valor agregado citados anteriormente, o que também tem sido proposto como primeiro passo da biorrefinaria por alguns autores já que esta tecnologia conduz a uma fase de líquido rico em açúcares derivados de hemiceluloses. A extração da fração de hemiceluloses pode ser feita com água quente (auto-hidrólise) ou em condições ácidas ou básicas. No processo de auto-hidrólise a água a temperaturas entre 150 e 170 °C provoca a hidrólise e a degradação de ramificações das cadeias principais das hemiceluloses (como ramificações de ácidos urônicos e de radicais acetil. Assim, o pH da solução cai de 3 a 4 e passa a ocorrer hidrólise ácida de hemiceluloses (MORAIS, 2015).

Uma pré-hidrólise em condições suaves hidrolisa as hemiceluloses em açúcares fermentescíveis, precursores de sacarídeos de interesse industrial sem causar degradação significativa da celulose e lignina. Ainda sob ação de ácidos diluídos, a glicose transforma-se em ácido levulínico e ácido fórmico (RAMOS, 2003). Sendo o ácido levulínico uma plataforma para a síntese de vários outros intermediários valiosos como pode-se verificar na Figura 8:

Figura 8 - Síntese de outros compostos a partir do ácido levulínico.



Fonte: Rodrigues (2011).

<sup>2</sup> ENGELBERTH, A.S.; WALSUM, G.P., Adding Value to the Integrated Forest Biorefinery with Co-products from Hemicellulose-Rich Pre-Pulping Extract. **Biorefinery Co-Products: Phytochemicals, Primary Metabolites and Value-Added Biomass Processing**, p. 287-310, mar. 2012 apud MORGANTE, C.M.; BONTURI, N.; MIRANDA, E.A; "Extração da fração hemicelulósica de cavacos de madeira visando sua aplicação em biorrefinarias", p. 1009-1014 In: **Anais do XI Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica**. São Paulo: 2015.

Evidencia-se que o processo de conversão do material lignocelulósico abre possibilidades diretas em inúmeros setores, tais como, a álcoolquímica, em comparação à cadeia petroquímica, indústria alimentícia com a produção de novos adoçantes e açúcares, produtos químicos diversos como solventes, adesivos, emulsificantes, entre outros. De forma indireta, as inovações em etanol de segunda geração, através da sobreposição e da alta correlação com diversas áreas do conhecimento, desenvolvimento e de aplicações, permitirão um efeito de transbordamento científico para demais áreas de pesquisa (SOUZA, 2013).

### 3.5 PROCESSO DE PRODUÇÃO DE BIOETANOL

A biomassa é composta da fonte de energia mais pronta da natureza: os açúcares, no entanto, estes são bloqueados em um polímero complexo criado para resistir à uma possível degradação biológica e química. Assim, a chave para uma indústria de biocombustíveis baseada na conversão de celulose (e hemiceluloses) em etanol é entender as estruturas químicas e físicas da parede celular das plantas bem como elas são sintetizadas e de que maneira podem ser desconstruídas.

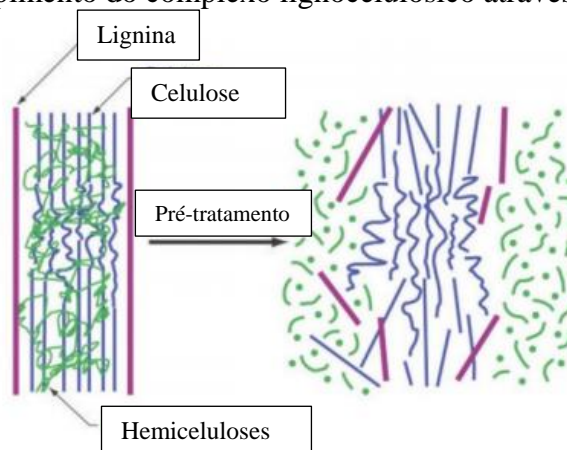
Biorrefinarias celulósicas tradicionais têm etapas complexas, sendo que a estratégia de conversão bioquímica de biomassa em etanol foi desenvolvida em 1930 e é constituída de três etapas básicas: pré-tratamento seguido por hidrólise e fermentação. Após a aquisição da biomassa celulósica adequada, o processo se inicia com a redução de tamanho e pré-tratamento da biomassa bruta celulósica para tornar os polímeros de celulose mais acessíveis, seguido então, pela aplicação de ácido ou preparações enzimáticas para hidrólise dos polissacarídeos da parede celular para produção de açúcares simples. Os passos finais incluem a fermentação, mediada por bactérias ou leveduras, para converter estes açúcares em etanol e outros coprodutos que podem ser recuperados da mistura aquosa resultante (U.S DOE, 2006).

#### 3.5.1 Pré-tratamento

Celulose e hemiceluloses quando hidrolisadas em seus componentes açúcares, podem ser convertidas em etanol através de tecnologias de fermentação bem estabelecidas, no entanto, os açúcares necessários para a fermentação estão presos dentro da estrutura de reticulação da lignocelulose. Assim, o pré-tratamento da biomassa é necessário para remover e / ou modificar a matriz circundante de lignina e hemiceluloses, ou seja, destrói-se a estrutura celular das

plantas quebrando as ligações de lignina, celulose e hemiceluloses, conforme Figura 9, o que pode ser realizado por processos termomecânicos ou termoquímicos (ROSA; GARCIA 2009; BORGES; TRIERWEILER 2009; ZHENG; PAN; ZHANG, 2009)

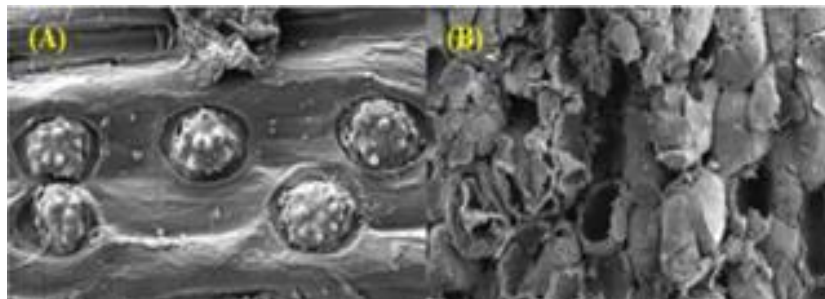
Figura 9 - Esquema do rompimento do complexo lignocelulósico através do pré- tratamento.



Fonte: Santos et al. (2012).

Além do aumento da porosidade do material causado por este processo, pode-se também melhorar significativamente a eficiência da etapa posterior (hidrólise), pois somente após a quebra desta “casca”, os materiais que contêm açúcares se tornam acessíveis (BACOVSKY et al., 2012; MCMILLAN, 1994 <sup>3</sup>apud SUN; CHENG, 2002). Pode-se perceber o impacto da realização do pré-tratamento da biomassa quando a diferença estrutural existente entre o material submetido ao pré-tratamento e o que não passa por tal procedimento é analisada. A Figura 10, por exemplo, apresenta micrografias eletrônicas de varredura de folhas de palmeira, sem pré-tratamento e após diferentes tipos de pré-tratamentos.

Figura 10 - Micrografias Eletrônicas de Varredura (MRV) para folhas de palmeira



Fonte: Suarez (2014).

<sup>3</sup> MCMILLAN, J.D., Pretreatment of lignocellulosic biomass. **American Chemical Society**, v. 566, p. 292–324, out. 1994 apud SUN, Y.; CHENG, J. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. **Bioresource Technology**, v. 83, p.1–11, mai. 2002.

O tipo de pré-tratamento depende do grau de separação entre os componentes que é requerido, assim como do fim proposto após a separação, ou seja, do processo selecionado para realização das etapas de hidrólise e fermentação (DRABER, 2013). Hamelinck et al. (2005)<sup>4</sup> *apud* Rosa e Garcia (2009) resumiu na Tabela 1 os processos de pré-tratamento da biomassa.

Tabela 1- Processos de pré-tratamento.

PROCESSO	DESCRIÇÃO	TEMPO DE REAÇÃO	RENDIMENTO DE XILOSE
Explosão de vapor	A biomassa triturada é tratada com vapor (saturado 160-260) seguido de uma rápida descompressão	1-10 min	45-65%
Termo hidrólise	Utiliza água quente a alta pressão (pressões acima do ponto de saturação) para hidrolisa as hemiceluloses	30 min	88-98%
Hidrólise ácida	Por meio do uso de ácidos sulfúrico, clorídrico ou nítrico, concentrados ou diluídos.	2-10 min	75-90%
Organosolventes	Uma mistura de um solvente orgânico (metanol, bioetanol e acetona por exemplo) com um catalisador ácido (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , HCl) é usada para quebrar as ligações internas da lignina e das hemiceluloses	40-60 min	70-80%
AFEX ( <i>ammonia fiber explosion</i> )	Exposição à amônia líquida a alta temperatura e pressão por certo tempo, seguida de rápida descompressão	-	50-90%
Polpação	Conversão da madeira em um material “desfibrado” por meio de processos mecânicos, químicos ou combinação de processos.	Variável	Mecânica: 90-95% Kraft: 45-55% Soda: 45-50% Quimiomec.: 75-90%

FONTE: Adaptada Rosa e Garcia (2009) *apud* Hamelinck et al. (2005)

<sup>4</sup> HAMELINCK, C. N. et al. Etanol from lignocellulosic biomass: technoeconomic performance in short, middle and long term. **Biomass and Bioenergy**, n. 4, p. 384-410, abr. 2005 *apud* ROSA, S. S. da; GARCIA, J. L. F. O etanol de segunda geração: limites e oportunidades. **Revista do BNDES**, n. 32, p. 117-156, dez. 2009.

A maior parte dos pré-tratamentos difere nos tipos de química e mecanismos responsáveis pelas modificações estruturais e químicas da parede celular, que resultam numa acessibilidade melhorada (FERREIRA, 2015). Esta etapa é vital para a viabilidade econômica na produção de etanol a partir da biomassa, esta etapa é a que apresenta maior custo e tem impacto em praticamente todas as operações posteriores. Esta controla os rendimentos de açúcar da hemiceluloses e celulose, pode encurtar o tempo necessário para a hidrólise de açúcares anidridos deixados nos sólidos até alguns dias e também afetar as cargas de tratamento de resíduos bem como a quantidade e a qualidade dos sólidos ricos em lignina que podem ser queimados para produzir calor e eletricidade ou fabricação de outros produtos.

Um fator importante que deve ser observado no pré-tratamento é a possibilidade de liberação ou geração de compostos inibidores naturais contidos na biomassa levando a um custo adicional para sua remoção e perdas de rendimento com a presença dos mesmos (SADDLER; GREGG, 1996). Geralmente, esses inibidores são compostos hidrossolúveis de baixa massa molar, como o ácido acético (vindo da desacetilação das hemiceluloses) ácido levulínico, ácido fórmico, ácido urônico, ácido 4- hidroxibenzoico, ácido vanílico, vanilina, produtos de desidratação de açúcares (furfural e 5- hidroximetilfurfural) e produtos de degradação da lignina (compostos fenólicos como cinamaldeído e formaldeído ), esses produtos geralmente reduzem significativamente o crescimento de biocatalizadores, as taxas de metabolismo do açúcar e os títulos finais de etanol, sendo assim de extrema importância a escolha correta do tipo de pré-tratamento e matéria prima a ser utilizada (PITARELO, 2013; US DOE, 2006). Desta maneira, o pré-tratamento aplicado deve evitar a degradação de carboidratos e a formação de compostos inibidores do processo de hidrólise e fermentação alcoólica (ROSA; GARCIA, 2009; SUN; CHENG, 2002; KUMAR et al., 2009; BRETHAUER; WYMAN, 2009; TAHERZADEH; KARIMI, 2007; MAGALHÃES, 2011).

A matéria-prima lignocelulósica a ser utilizada no processo pode influenciar na seleção do tipo processo e suas modificações (SADDLER; GREGG, 1996). Desta maneira, de modo resumido segundo Sun e Cheng (2002) o pré-tratamento deve atender aos seguintes requisitos: (1) melhorar a formação de açúcares ou a capacidade de subsequentemente formar açúcares por hidrólise enzimática; (2) evitar a degradação ou perda de carboidratos; (3) evitar a formação de subprodutos inibitórios para a subseqüente hidrólise e processos de fermentação; e (4) ser rentável.

Segundo Rossi (2012) os pré-tratamentos químicos têm recebido uma maior atenção, já que os pré-tratamentos físicos são relativamente ineficientes no aumento da digestibilidade da

biomassa e os tratamentos combinados raramente são melhorados quando comparados aos tratamentos simples. O pré-tratamento químico tem como objetivo remover a lignina sem praticamente degradar a cadeia celulósica que deve apresentar propriedades adequadas à sua posterior utilização, sendo a polpação alcalina destes processos de separação dos materiais lignocelulósicos.

### 3.5.1.1 Processo de polpação

O objetivo do processo de polpação é a remoção de grande parte da lignina e a separação das fibras de celulose da matéria-prima vegetal empregada, o que é conseguido através de uso de reagentes apropriados que atuam sobre a lignina em condições específicas de tempo de reação, temperatura e concentração de reagentes. (MAMBRIM FILHO, 1989).

Segundo Gomide e Gomes (2015), a deslignificação da madeira ocorre em três fases: inicial, com ligeira remoção da lignina; principal, quando a maior parte da lignina é removida; e residual, onde há pouca remoção da lignina. Durante a fase inicial, cerca de 7% da lignina é removida, essa etapa compreende a dissolução das frações de lignina que resultam da clivagem de ligações  $\alpha$  e  $\beta$  arila em unidades fenólicas da lignina. Na fase de deslignificação principal, aproximadamente 85% da lignina é removida devido à clivagem das ligações éter  $\beta$ -arila das unidades não fenólicas da lignina. Já na fase de deslignificação residual, cerca de 4% da lignina é removida. A deslignificação na fase residual é atribuída às quebras das ligações carbono-carbono, que só ocorrem em elevada temperatura e alta alcalinidade, nesta fase a concentração de álcali é relativamente baixa, dificultando essas reações.

Os processos químicos de polpação são os processos soda e Kraft, os quais são similares sendo o hidróxido de sódio o principal agente de digestão. O processo soda foi o primeiro método químico de polpação reconhecido com a utilização de uma solução alcalina forte de hidróxido de sódio para deslignificação de cavacos de madeira (KLOCK, 2010), apresentando como desvantagem baixos rendimentos e qualidade inferior da polpa celulósica em relação ao processo Kraft. Desvantagens que podem ser atribuídas ao tempo de deslignificação excessivamente longo, às altas temperaturas e às altas concentrações de soda necessárias para a produção de polpas que possam ser branqueadas. Mesmo assim, esse processo seria uma possível solução para substituição do processo Kraft caso se conseguissem melhoras na taxa de deslignificação, rendimento e qualidade da polpa.

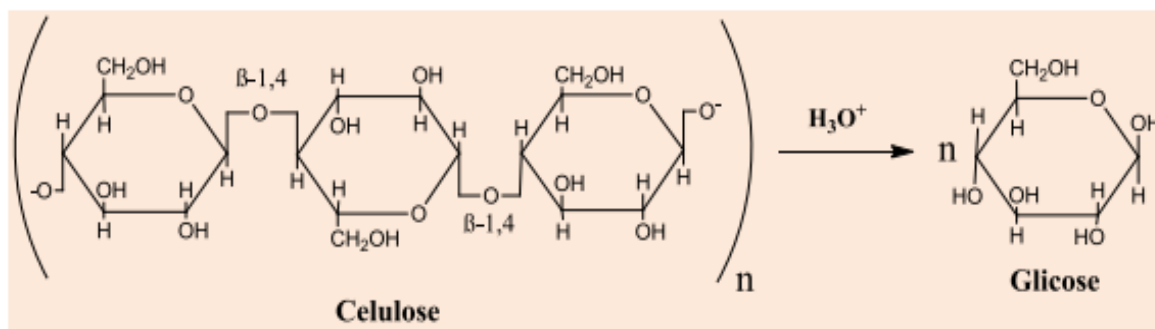
O crédito do desenvolvimento do processo kraft (sulfato) é dado a C.J. DAHL. Num esforço para encontrar um substituto para o dispendioso carbonato de sódio (cinza da soda) como o precursor do ciclo químico do processo soda, ele experimentou a adição de sulfato de sódio na fornalha de recuperação. O sulfato foi quimicamente reduzido a sulfeto pela ação da queima do licor na fornalha. Subsequentemente DAHL descobriu que o sulfeto no licor de cozimento acelerou acentuadamente a deslignificação com produção de polpa mais resistente, obtendo patente para o processo em 1884 (D'ALMEIDA, 1988). As propriedades de resistência superiores foram reconhecidas e os novos tipos de papéis foram chamados papéis kraft ou fortes, já que kraft é a palavra alemã para forte (KLOCK, 2010). Na polpação kraft, a madeira sob forma de cavacos é tratada em vasos de pressão, denominados digestores, com hidróxido de sódio (NaOH) e sulfeto de sódio (Na<sub>2</sub>S) em pH acima de 12. Apesar das várias vantagens apresentadas, um problema ambiental da indústria de celulose kraft é o odor causado pela emissão dos compostos reduzidos de enxofre gerados pela deslignificação de madeiras de um modo em geral, o que não acontece no processo de polpação soda (FOELKEL et al., 1983). Sendo um dos objetivos das instalações industriais a redução ou eliminação total das emissões atmosféricas de gases de enxofre.

### **3.5.2 Hidrólise ácida e enzimática**

Após a etapa de pré-tratamento do material lignocelulósico, o próximo passo da produção do etanol de segunda geração é a hidrólise propriamente dita, que tem como objetivo originar, a partir dos polissacarídeos constituintes da biomassa, monossacarídeos, ou seja, açúcares diretamente fermentescíveis, podendo a celulose ser decomposta em glicose por enzimas celulasas ou quimicamente por ácidos estando a diferença entre elas apenas no tipo de catalisador utilizado (ZHENG; PAN; ZHANG, 2009).

A hidrólise ácida consiste na aplicação de ácido forte para que este ataque as ligações existentes entre os monossacarídeos dos polissacarídeos, ou seja, o íon hidrônio ataca o oxigênio que faz ligação entre os monômeros de açúcares formadores da cadeia de celulose, quebrando esta ligação e formando a glicose (GRASEL et al., 2017), conforme apresentado na Figura 11.

Figura 11 - Clivagem das ligações  $\beta$ -1,4 glicosídicas em meio ácido.



Fonte: Grasel et al. (2017).

O uso de ácidos para hidrolisar a biomassa é relativamente antigo levando-se em consideração que sua utilização data do fim do século XIX. A hidrólise da celulose catalisada por ácido é uma reação complexa e heterogênea, pois envolve fatores físicos e químicos seguindo o mecanismo de clivagem das ligações glicosídicas  $\beta$ -1,4. Tal processo pode ser realizado com ácido concentrado ou diluído, sendo que ambas as formas apresentam peculiaridades a serem observadas antes da seleção das condições operacionais desta etapa. Para processo com ácido diluído são utilizadas altas temperaturas e pressões com tempo de reação de segundos a minutos já para a utilização de ácido concentrado as condições são mais brandas com tempos de reação mais longos (BNDS; CGEE, 2008).

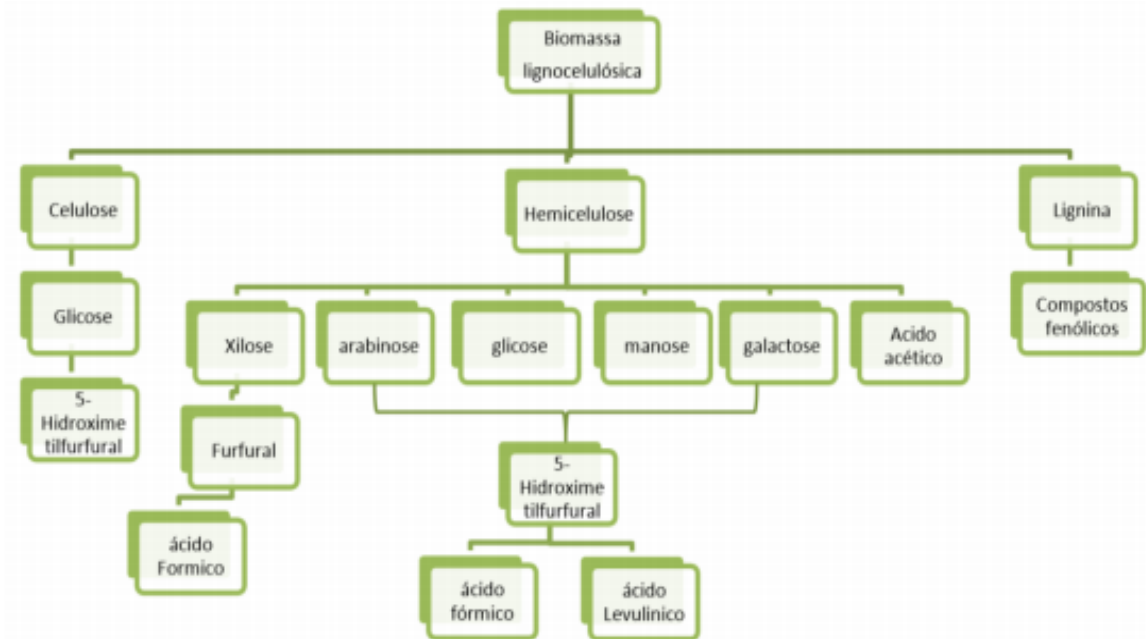
A hidrólise ácida apesar de complexa apresenta vantagens importantes sobre o processo enzimático, em virtude da disponibilidade, garantia de fornecimento e menor custo dos reagentes, além da maturidade tecnológica e reduzidas restrições em termo de propriedade intelectual. A hidrólise com ácido concentrado apresenta rendimentos maiores e menores problemas com a produção de inibidores, embora a necessidade de recuperação do ácido e de equipamentos resistentes à corrosão comprometa o desempenho econômico do processo. Já o emprego de ácidos diluídos, apesar de reduzir os custos de aquisição de equipamentos, apresenta, originalmente, a quebra da celulose lenta, sendo necessárias maiores temperaturas para aumentar a velocidade da hidrólise e, desta forma, torná-lo mais rápido do que o processo que usa ácido concentrado, mas isto representa um problema, visto que temperaturas elevadas levam à maior degradação dos açúcares formados e da lignina residual e, conseqüentemente, à maior formação de inibidores (ASSUMPCÃO, 2015).

Uma das principais desvantagens do processo de hidrólise ácida é geração de compostos inibidores da fermentação durante a hidrólise, advindos da degradação dos açúcares formados ou da lignina e que dificultam a bioconversão dos açúcares em etanol (fermentação). Para



prosseguir na geração de etanol celulósico, seria necessária a retirada destes inibidores, cujas origens estão representadas na Figura 12.

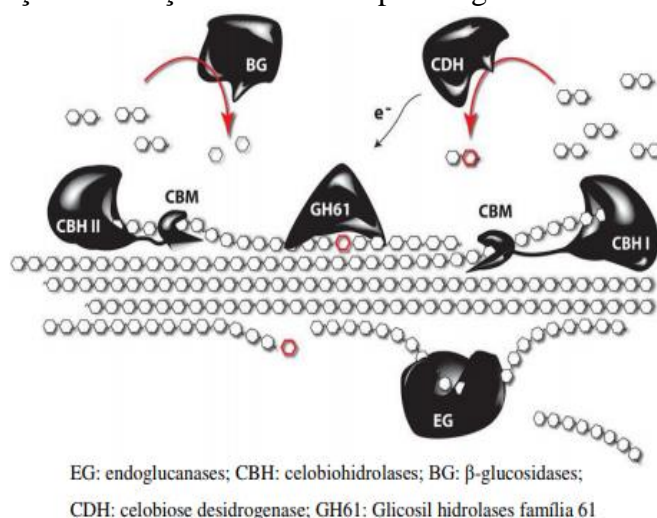
Figura 12- Origens dos compostos inibitórios na hidrólise e fermentação.



Fonte: BNDS e GEE (2008)

Embora a hidrólise ácida das celulosas seja possível e tenha sido aplicada antigamente, o método utilizado nos últimos tempos é a hidrólise enzimática, a qual utiliza enzimas de atuação específica como catalisador da reação de quebra das moléculas dos polissacarídeos em monossacarídeos. Geralmente sistemas enzimáticos são tão complexos quanto os substratos de parede celular de plantas que atacam (U.S DOE, 2006). As enzimas que hidrolisam a celulose são chamadas genericamente de celulasas. na realidade, trata-se de um complexo enzimático composto por endoglucanases (que atacam as cadeias de celulose para produzir polissacarídeos de menor comprimento), exoglucanases (que atacam os terminais não-redutores dessas cadeias mais curtas e removem a celobiose que é composta por duas unidades de açúcar) e  $\beta$ -glucosidases (que hidrolisam a celobiose e outros oligômeros à glicose para tornar o material adequado para fermentação (PHILIPPIDIS; SMITH, 1995), conforme pode-se observar na Figura 13. A atuação das enzimas em conjunto produz um efeito sinérgico, onde apresentam melhor rendimento do que a soma dos rendimentos individuais.

Figura 13 - Representação da atuação das enzimas para degradar a celulose



Fonte: Vanholme et al. (2013)

Em contraste com a estrutura cristalina da celulose as hemiceluloses possuem uma estrutura amorfa, resultando em uma maneira significativamente mais fácil de hidrólise. Assim, a hidrólise de hemiceluloses pode ser realizada por ácidos, bases ou enzimas adequadas, geralmente sua hidrólise já ocorre no passo de pré-tratamento (BACOVSKY et al., 2012).

Como vantagem o processo de hidrólise enzimática não produz muitos compostos tóxicos para as leveduras e apresentar menores riscos operacionais, além de melhor rendimento em relação à hidrólise ácida devido sua alta especificidade, mas os problemas aqui são, o elevado tempo de processo (48 a 72 h), desativação catalítica por inibição da atividade enzimática, além do elevado custo das enzimas (GRASEL, et al. 2017). O custo das enzimas é um fator limitante de sua utilização no processo de obtenção do etanol celulósico, pois em média são gastos US\$ 5.40 por galão (3,785 L) de etanol produzido (ZHANG; MICHAEL; JONATHAN, 2006).

Uma comparação, em termos de condições de operação e de rendimento, entre as três diferentes formas de hidrólise da celulose encontra-se apresentada na Tabela 2 abaixo:

Tabela 2- Comparação das diferentes opções para a hidrólise da celulose.

Processo	Insumo	Temperatura	Tempo	Sacarificação
Ácido diluído	< 1% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	215° C	3 min	50% - 70%
Ácido concentrado	30%-70% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	40° C	2 – 6h	90%
Enzimático	Celulase	70° C	1,5 dia	75%-85%

Fonte: Adaptado BNDS e CGEE (2008).

### 3.5.3 Fermentação

Uma vez obtidos os açúcares pela quebra das cadeias de glicose na hidrólise, seguem-se as etapas de fermentação e destilação, exatamente como no processo convencional. O processo de fermentação pode ser representado pela reação química global entre sacarose e água, a qual origina etanol e dióxido de carbono a seguir:



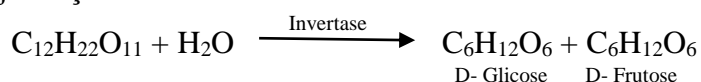
Açúcares podem ser fermentados em etanol por microrganismos, que podem ser naturalmente ocorridos ou geneticamente modificados (ZHENG; PAN; ZHANG, 2009). São utilizadas leveduras, fungos unicelulares, isto é, formados por uma única célula e que, geralmente, não formam filamentos. Nas grandes indústrias produtoras de etanol são usadas leveduras de panificação, prensadas e secas ou leveduras selecionadas, com tolerância a altos teores de etanol e com boa velocidade de fermentação. Os critérios tecnológicos que fazem com que uma levedura seja utilizada comercialmente na fermentação alcoólica são o alto rendimento e a elevada produtividade, ou seja, a rápida conversão de açúcar em álcool com baixa produção de componentes secundários, sendo o microrganismo mais usado neste processo a levedura *Saccharomyces cerevisiae* (BELLUCO, 2001; CAMILI, 2010). Segundo Rabelo (2010) o microrganismo mais apropriado para promover a fermentação alcoólica tradicional em escala industrial é a *Saccharomyces cerevisiae*, pois devido à sua grande aplicação nesse processo produtivo, passou por uma seleção natural ao longo do tempo que garantiu-lhe características como significativo desempenho em termos de produção de etanol, produtividade e tolerância à inibição em razão da presença de álcool no meio reacional, chegando a atingir concentrações de etanol de até 20% (v / v).

No estudo da cinética da fermentação alcoólica, considera-se que quando uma pequena quantidade de células viáveis é adicionada ao meio líquido, com os nutrientes essenciais necessários, em temperatura e pH adequados, o crescimento celular irá ocorrer (FARIAS, 2014). Segundo Souza e Monteiro (2011) existem três fases no processo de fermentação, logo após a adição do fermento: fase de adaptação dos microrganismos ao novo ambiente, onde começam a crescer, nesta, o mosto (mistura açucarada destinada à fermentação alcoólica) ainda contém uma determinada quantidade de oxigênio, para que ocorra o desenvolvimento das leveduras. A segunda fase é caracterizada pelo grande aumento de microrganismos e liberação de gás carbônico, nesta fase é que haverá o aumento da temperatura e do teor alcoólico. Na última fase, o alimento entra em escassez, o crescimento das leveduras diminui, há diminuição

de gás carbônico e precipitação do fermento. Neste processo, além produção de etanol e CO<sub>2</sub>, outros elementos metabólicos são produzidos, como, glicerol, ácidos orgânicos, álcoois superiores, acetaldeído, acetoína, butilenoglicol, etc.).

A levedura realiza o consumo de algum substrato presente no meio com o intuito de conseguir energia química (ATP, adenosina trifosfato) para utilização em diversas funções fisiológicas (absorção, excreção e outras) e biossínteses necessárias a sobrevivência (crescimento e multiplicação), o etanol é somente consequência desta atividade (produtos de excreção) sem utilidade metabólica. (LIMA; MARCONDES, 2002)

. O etanol só é formado pelas leveduras a partir de monossacarídeos, sendo necessário decompor a sacarose (C<sub>12</sub>H<sub>22</sub>O<sub>11</sub>) em D-glicose e D-frutose, fornecendo a enzima invertase que hidrolisa a sacarose, cuja reação esta demonstrada abaixo:



O processo se inicia por meio da atuação da exoenzima invertase, a qual, por meio da hidrólise, transforma a sacarose em glicose e frutose (monossacarídeos estruturais). Esses monossacarídeos são transportados para o interior da célula da levedura, formando dois ciclos distintos onde em condições de anaerobiose realiza a fermentação e em condições de aerobiose utiliza estas fontes de carbono no processo de respiração aeróbica (AMORIM; BASSO; ALVES, 1996). O primeiro (1) ocorre na mitocôndria a glicólise, quebra da molécula da glicose até ácido pirúvico através de uma série de reações, o segundo (2) no citoplasma com a ausência de oxigênio há uma tendência a atuação das enzimas piruvato descarboxilase e álcool desidrogenase, produzindo assim, etanol e água a partir do ácido pirúvico. Em condições anaeróbicas ou em elevada concentração de glicose, o piruvato é reduzido a etanol com a liberação de dióxido de carbono. Segundo Cardoso (2007), a levedura possui dois tipos de metabolismo celular: oxidativo e fermentativo. O metabolismo oxidativo ocorre na presença de oxigênio, em que a levedura pode apresentar o efeito “pasteur” oxidando os carboidratos por respiração e estimulando a multiplicação intensa, entretanto na ausência de oxigênio o metabolismo passa a ser fermentativo, ocorre assim a produção de etanol e gás carbônico. O gás carbônico formado na aeração de transformação de sacarose em etanol contribui para a manutenção da anaerobiose na dorna de fermentação.

1 – Via aeróbia

D- glicose → respiração → CO<sub>2</sub> + H<sub>2</sub>O (crescimento celular rápido)

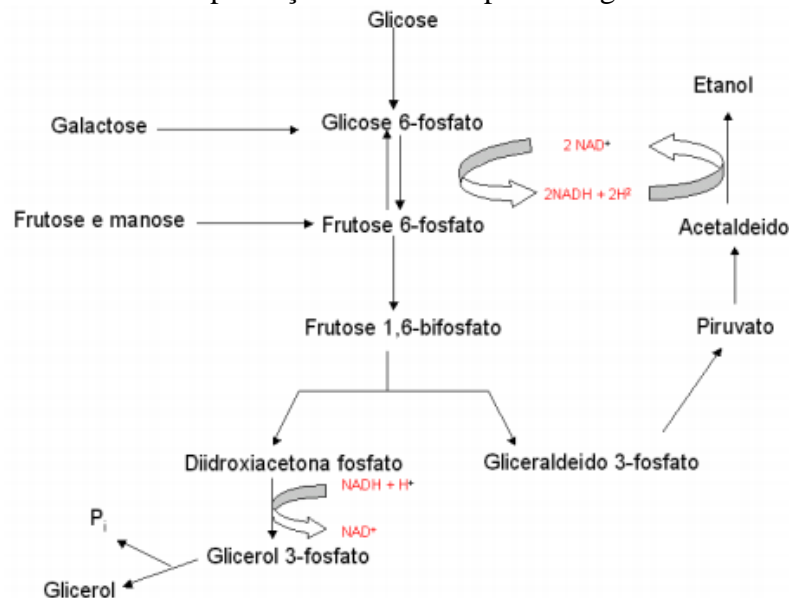
2 – Via anaeróbica

D- glicose  $\rightarrow$  fermentação  $\rightarrow$  C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH + CO<sub>2</sub> (crescimento celular lento)

D- glicose + 2ADP + PO<sub>4</sub><sup>-3</sup>  $\rightarrow$  2 C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH + 2 CO<sub>2</sub> + 2ATP + H<sub>2</sub>O

De maneira simplificada pode-se descrever a ação das enzimas conforme Figura 14. A formação do etanol ocorre pela via glicolítica, nesta vida a glicose é oxidada a gliceraldeído-3-fosfato e dihidroxicetona fosfato. O gliceraldeído é convertido a piruvato que é então, descarboxilado a acetaldeído. Na reação subsequente, o acetaldeído é reduzido a etanol pela enzima álcool desidrogenase pelo uso de NADH+. As duas moléculas de NAD+ formadas são utilizadas na oxidação de outra molécula de glicose, mantendo-se assim, o equilíbrio redox na célula. A dihidroxicetona pode ser convertida a gliceraldeído-3- fosfato e posteriormente a etanol ou reduzida a glicerol (AMARAL, 2009).

Figura 14 - Metabolismo central da produção de etanol a partir da glicose



Fonte: Melo (2006).

Teoricamente, pode ser obtido até 51,1% de etanol e 48,9% de CO<sub>2</sub> em base mássica, em relação à glicose metabolizada, e, ainda, são produzidos na glicólise dois moles de ATP (adenosina tri-fosfato) por mol de glicose, usados para a manutenção energética das células (CINELLI, 2012). Para a produção do etanol o rendimento teórico ( $Y_{p/s}$ ) é de 0,511 g/g, no entanto, durante a reação são utilizadas parte das moléculas de glicose para produção de intermediários (glicerol e álcoois superiores) necessários para a síntese de material celular e manutenção da levedura levando assim a uma redução do rendimento teórico e resultando no denominado rendimento de Pasteur, o qual demonstra que o rendimento real máximo do processo é de 95%, os rendimentos ótimos dos intermediários são demonstrados na Tabela 3

(SOUZA, 2009; LIMA; MARCONDES, 2002). Segundo Cinelli (2012) a produção destes subprodutos, bem como o crescimento e manutenção celular, inevitavelmente, direciona intermediários da via glicolítica para as vias metabólicas correspondentes, diminuindo a produção de etanol. Na indústria, a eficiência de conversão em etanol, calculada tendo como referência o rendimento de 51,1%, chega a 90-93 %, devido, principalmente, ao crescimento celular e à produção de produtos finais de metabolismo secundários.

Tabela 3 - Rendimento ótimo de fermentação de leveduras em condições anaeróbicas

<b>Produtos</b>	<b>g por 100 g de D - glicose</b>
Etanol	48,4
Dióxido de carbono	46,6
Glicerol	3,3
Ácido succinico	0,6
Massa de células	1,2

Fonte: Adaptado de Lima e Marcondes (2002).

Estequiometricamente, a partir de 100 gramas de D-glicose, obtém-se 51,11 g ou 64 mililitros de álcool. Pasteur demonstrou que em condições de trabalho reais obtém-se a partir de 100 g de glicose 48,5 g ou 61 mililitros de etanol a 15°C. Isso porque 5% do açúcar é consumido no crescimento celular e para a formação dos subprodutos da fermentação (LIMA; MARCONDES, 2002). A reação global da glicólise demonstra que 1 mol de glicose (180g) produz 2 mols de etanol (92g), 2 moles de dióxido de carbono (88g) e 57 Kcal de energia. Assim, o rendimento teórico (Yp/s) para a produção de etanol é de 0,511 g/g. Na prática, este valor não é observado devido à utilização de parte da glicose para a produção de glicerol, álcoois superiores e ácidos, substâncias necessárias para a síntese de material celular e manutenção da levedura, sendo o glicerol o mais importante do ponto de vista quantitativo. Assim, a habilidade de se controlar estes processos é de extrema importância, no sentido de se obter menores perdas por formação de subprodutos, produtividades mais altas, melhora na uniformidade dos produtos e redução dos custos operacionais (FERRARI, 2013).

Segundo Lima e Marcondes (2002) o rendimento fermentativo obtido em laboratório (63,33 litros de álcool/100 quilogramas de sacarose) não é atingido nas destilarias industriais e representa um máximo ideal. Em unidades tecnicamente bem conduzidas, atinge-se um

rendimento de 60 L de álcool por 100 kg de sacarose, alcançando, em alguns casos, 61 litros em destilarias em condições ótimas de funcionamento.

A viabilidade econômica do etanol lignocelulósico está diretamente relacionada com a eficiência da fermentação, isto é, quantos dos açúcares obtidos a partir da biomassa lignocelulósica serão efetivamente transformados em etanol (UNREAN; NHUNG<sup>5</sup>, 2013 *apud* FARIAS 2014). As hemiceluloses são polímeros ramificados compostos por pentose (5-carbonos) e hexose, açúcares que podem ser hidrolisados para libertar os seus açúcares incluindo xilose, arabinose, galactose, glicose e manose. Hexoses como glicose, galactose e manose são facilmente fermentadas em etanol por muitos organismos que ocorrem naturalmente, mas as pentoses incluindo xilose e arabinose são fermentados em etanol por poucos estirpes nativas e, geralmente, com rendimentos relativamente baixos (ZHENG; PAN; ZHANG, 2009) Para ser econômico, todos os açúcares, tanto pentoses quanto hexoses, devem ser convertidos em etanol ou outros produtos úteis, sendo um dos principais obstáculos para que isto ocorra a fermentação das pentoses, particularmente D-xilose, já que o *S. cerevisiae* não fermenta pentoses, correspondente a aproximadamente 40% do total do açúcar disponível na biomassa, e outras estirpes devem ser empregadas para a fermentação de misturas que contenham arabinose e xilose. Seu alto teor na fração hemicelulósica aliada à sua facilidade de extração do complexo lignocelulósico, tem atraído a atenção de pesquisadores para a efetiva utilização desta fração em processos de bioconversão já que não há certeza quanto a possibilidade de aproveitamento da hemiceluloses para a produção do etanol (ROSA; GARCIA 2009; GEORGIEVA; AHRING, 2007).

É de suma importância considerar as condições fisiológicas impostas pelo processo industrial sobre os microrganismos presentes no ambiente da fermentação, para a identificação de agentes físicos, químicos e microbiológicos que estejam exercendo efeitos estressantes ou estimulantes a esses microrganismos (leveduras e bactérias) (AMARAL,2009). Como são um grande número de reações que acontecem enzimaticamente no metabolismo celular vários fatores podem afetar a cinética do processo fermentativo, conseqüentemente o de produção de etanol, sendo, portanto, de extrema importância como: pH, temperatura, pressão, concentração de reagentes, entre outros (SOUZA, 2009). Algumas estratégias têm sido amplamente utilizadas

---

<sup>5</sup>NGUYEN, N.; UNREAN, P. Optimized Fed-Batch Fermentation of *Scheffersomyces stipitis* for Efficient Production of Ethanol from Hexoses and Pentoses. **Applied Biochemistry And Biotechnology**, EUA, v. 169, n. 6, p.1895-1909, jan. 2013 *apud* FARIAS, D. **Produção de etanol de segunda geração por *scheffersomyces stipitis* a partir de pentoses em processo extrativo a vácuo**. 2014. 263 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia de Alimentos, Unicamp, Campinas, 2014.

em processos de produção de etanol celulósico, dentre elas hidrólise separada de fermentação (SHF) e sacarificação e fermentação simultânea (SSF).

No processo de SHF a hidrólise e a fermentação acontecem em reatores separados, em que uma vez completada a etapa de hidrólise da celulose, a glicose obtida é levada para a fermentação e produção de etanol. Uma das principais vantagens deste tipo de processo é poder otimizar a operação de cada etapa (principalmente temperatura e pH) o que não é possível com o SSF. Neste último hidrólise e fermentação acontecem no mesmo reator, os microrganismos de fermentação convertem imediatamente glicose formada no processo de hidrólise, gerando etanol levando a vantagem de evitar o acúmulo de produtos celobiose e glicose no meio, evitando inibição de algumas enzimas, o qual também irá custar menos devido a necessidade de utilização de apenas um reator (SUN; CHENG, 2002).

Quando utilizada apenas para a produção de etanol, considerando a tecnologia brasileira, 1 tonelada de cana é capaz de produzir cerca de 85 a 90 litros deste biocombustível. E se utilizada apenas para a produção de açúcar, 1 tonelada de cana produz 100 kg deste produto, além de gerar aproximadamente 20 litros de bioetanol a partir do melaço. Embora a produção do etanol de milho seja mais complexa do que quando comparada à cana-de-açúcar, esta última perde quanto ao rendimento de álcool. A partir de uma tonelada de milho é produzido cerca de 460 litros de bioetanol anidro e 380 kg de DDGS. Contudo, o etanol de cana-de-açúcar é mais produtivo, pois são geradas de 60 a 120 toneladas por hectare de cana plantada, enquanto que o milho produz entre 15 a 20 toneladas por hectare, dentre os quais 50% constituem sua matéria seca. Ou seja, apenas entre 7,5 e 10 toneladas por hectare de milho são utilizados para a fabricação do etanol (BNDES; CGEE, 2008).

### 3.5.3.1 Temperatura

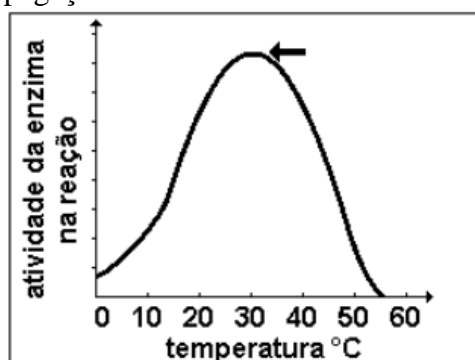
A temperatura na etapa de fermentação para produção de etanol foi parâmetro estudado por Sree et al. (2000), quando o autor aumentou a temperatura do processo de 30° para 40°C em um meio contendo 150 g.L<sup>-1</sup> de glicose foi verificada uma diminuição de concentração de etanol 75,2 g.L<sup>-1</sup> para 55,0 g.L<sup>-1</sup>. Elevando-se a concentração de glicose no meio para 350 g.L<sup>-1</sup>, a produção de etanol pelos mesmos mutantes e na mesma faixa de temperatura, também diminuiu de 83,8 g.L<sup>-1</sup> para 38,5 g.L<sup>-1</sup>. Uma explicação para isto segundo Gallardo (2010) é que a exposição do material a temperaturas mais elevadas provoca a quebra das ligações de hidrogênio, resultando na desnaturação das proteínas e dos ácidos nucléicos, aumenta a fluidez



da membrana e reduz a permeabilidade desta pelos nutrientes essenciais, além de diminuir a atividade respiratória da célula e a divisão celular. Para Cardoso (2006) a temperatura é importante, mas acima de 35°C enfraquecem as leveduras, cria boas condições para o aparecimento de outros microrganismos e ocasiona maiores perdas de álcool por evaporação, já temperaturas inferiores a 25°C diminuem a atividade da levedura.

Teixeira (2016) estudando o efeito da temperatura na microbiota da fermentação alcoólica encontrou a temperatura de 30°C foi a mais adequada para ser utilizada no processo fermentativo, assim como Cabral (2006) demonstrou em seu estudo através da Figura 15.

Figura 15 - Temperatura de propagação das leveduras alcoólicas



Fonte: Cabral (2006).

De acordo com o mesmo respeitadas estas condições, o tempo de fermentação deve ficar entre 06 e 08 horas. Após esse período a efervescência do mosto termina e as leveduras decantam para o fundo da dorna, é hora de destilar.

### 3.5.3.2 pH

Vários autores estudaram o efeito do pH no processo de fermentação alcoólica dentre eles Walker (1998) <sup>6</sup>apud Gallardo (2010) destacam que a maioria de leveduras cresce a pH 4,5 – 6,5 e que variações no pH do meio podem levar à diminuição ou perda total da atividade catalítica das enzimas envolvidas na produção de etanol. Quando o pH externo cai muito ocorre a perda de nutriente e aumenta a sensibilidade da levedura ao etanol, esse efeito é acentuado na

---

<sup>6</sup> WALKER, G. M. **Yeast physiology and biotechnology**. London: John Wiley & Sons, 1998 apud GALLARDO, J. C. M. **Produção de etanol a 40-42°C em uma cocultura de *saccharomyces cerevisiae* e *issatchenkia orientalis***. 2010. 114 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Biotecnologia, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2010.

presença de ácidos orgânicos fracos pois ocorre um aumento da forma não dissociada do ácido, diminuindo o pH interno da célula

Amaral (2009) encontrou que para atingir a maior produção de etanol (g/g), a faixa de temperatura mais adequada é de 32,5 a 39°C, pH de 3,5 a 4,3 e a de concentração de sulfito foi de 0 a 45 mg.L<sup>-1</sup>. A máxima produtividade de etanol (g/L.h) foi obtida nas condições de temperatura de 33,5°C, pH de 3,9 e na ausência de sulfito. Em seu estudo ficou claro o efeito prejudicial de baixos valores de pH e de altas temperaturas na produção de etanol. Quando se trabalha em altas temperaturas, em meios mais ácidos e em altas concentrações de sulfito prejudica-se a formação deste produto segundo os mesmos valores muito baixos de pH, além de ocasionarem perda de nutrientes como nitrogênio e potássio aumentam a sensibilidade ao etanol, aos ácidos orgânicos e ao SO<sub>2</sub>. Para Cardoso (2006) o pH ideal para a produção de etanol, a partir de leveduras do gênero *Saccharomyces cerevisiae* deve estar em torno de 4,5 abaixo disso aumenta-se muito a produção de álcoois superiores.

Na produção de bioetanol a partir da palha de trigo tratada por auto-hidrólise, as produções máximas de etanol, obtidas de 50 g.L<sup>-1</sup> de glucose foram de 24,12 e 24,38 g.L<sup>-1</sup> (RUIZ et al., 2015).

### 3.5.3.3 Concentração de Etanol

O etanol é um elemento tóxico para as leveduras, por isso é recomendável se utilizar variedades de alta tolerância nos processos industriais. O Efeito da inibição do etanol sobre as leveduras é pequeno em baixas concentrações de etanol (menor que 20g l<sup>-1</sup>), mas aumenta rapidamente em altas concentrações. Em concentrações maiores que 110 g de etanol/litro a atividade das leveduras cessa rapidamente (LIMA; MARCONDES, 2002). A tolerância das leveduras ao etanol é um parâmetro que pode variar muito entre as cepas sendo muito influenciada pelas condições de cultivo e especialmente pela temperatura. O efeito inibidor do etanol tem sido atribuído a fatores como o acúmulo de acetaldeído e acetato nas células, a alterações nas membranas celulares e em alguns casos ao efeito sobre osmose celular (SAAD, 2010).

### 3.5.3.4 Nutrientes

As células de leveduras, durante o processo de fermentação alcoólica apresentam necessidades nutricionais e os nutrientes influenciam diretamente a manipulação e o crescimento celular e também a eficiência da transformação do açúcar em álcool (AMARAL, 2009). Os nutrientes participam do metabolismo do fermento como ativadores das enzimas, no caso, quando uma quantidade de nutrientes é insuficiente, o fermento reproduz e conduz a fermentação lentamente ou mesmo sua reprodução é impossível. Já uma alta concentração resulta em alto teor alcoólico, que pode resultar em toxidez à levedura por desestabilizar a membrana plasmática inibindo o crescimento.

### **3.5.4 Destilação**

O processo de destilação deve ser realizado, posteriormente a fase de fermentação, pois a ação das leveduras não permite concentração de etanol – em solução aquosa – superior a 10%, assim, é preciso eliminar a água por destilação (ROSA; GARCIA, 2009).

Pose-se definir a destilação como um processo físico no qual, mediante calor, separam-se os componentes voláteis de uma mistura líquida por evaporação. Nesse processo, a concentração do componente mais volátil é cada vez mais concentrada na fase vapor; no caso da destilação do álcool, o componente mais volátil é o álcool e o menos volátil é a água. O processo é realizado em aparelhos industriais denominados colunas ou torres de destilação. É contínuo e, em linhas gerais, tem três partes básicas constituintes das colunas (Coluna propriamente dita, rebulidor e condensador) (LIMA; MARCONDES, 2002).

Quimicamente, o álcool etílico hidratado não apresenta diferença quando produzido por diferentes matérias-primas como cana-de-açúcar, cereais, beterraba e mandioca. As diferenças estão restritas às impurezas que acompanham o álcool que é característico de cada matéria-prima e o grau de purificação pelo qual passou o produto (CAMILI, 2010).

## 4 MATERIAIS E METODOS

### 4.1 MATERIAL

Para este estudo foram utilizados cavacos de madeira obtidos a partir de híbridos de *Eucalyptus grandis x Eucalyptus urophylla* (*Eucalyptus urograndis*) com 7 anos de idade cedidos por uma empresa do setor de celulose da região de Itapeva. Sendo utilizados soda NaOH 185,6 g.L<sup>-1</sup> para a polpação celulósica, ácido sulfúrico 72% para a hidrólise ácida e fermento de padaria seco (*Saccharomyces cerevisae*).

### 4.2 MÉTODOS

#### 4.2.1 Pré-tratamento

##### 4.2.1.1 Pré-hidrólise

O tratamento de pré-hidrólise foi realizado em água sob pressão, com 100 g de cavacos equivalente à madeira absolutamente seca, em um digestor rotativo laboratorial da marca Regmed, com quatro reatores individuais de capacidade de 1,5 litros cada, aquecido eletricamente e dotado de termômetro e manômetro. As condições do processo estão apresentadas na Tabela 4.

Tabela 4 - Condições gerais empregadas na pré-hidrólise.

Variável	Condição
Relação Licor: Madeira (m/m)	6:1
Temperatura (° C)	160
Tempo até temperatura (min)	60
Tempo à temperatura (min)	45

Fonte: Autoria Própria.

Ao final do tratamento, foram coletados os licores para análise e, posterior, produção de subprodutos. Os cavacos foram processados pelo cozimento soda.

#### 4.2.1.2 Polpação Soda

Para obtenção de polpa química foi utilizado o processo soda. Os cozimentos foram realizados em digestor rotativo laboratorial da marca Regmed, com quatro reatores individuais de capacidade de 1,5 litros cada, aquecido eletricamente e dotado de termômetro e manômetro. As condições dos cozimentos estão apresentadas na Tabela 5. Os cavacos pré-hidrolisados foram inseridos nas cápsulas junto com o licor de cozimento e água.

Tabela 5 - Condições empregadas na polpação soda de cavacos pré-hidrolisados

Variável	Condição
Relação Licor: Madeira (m/m)	4:1
Temperatura (° C)	165
Rampa de aquecimento (° C.min <sup>-1</sup> )	1,33
Tempo à temperatura (min)	90
Álcali ativo como NaOH (%)	23

Fonte: Autoria Própria

Terminado o processo de polpação, os licores foram recolhidos para análise e as polpas foram lavadas com água à temperatura ambiente. As fibras foram individualizadas em liquidificador laboratorial. Utilizou-se um depurador laboratorial dotado de placa com fendas de 0,2 mm para depuração da polpa celulósica, em seguida, foi desaguada em centrífuga até uma consistência de aproximadamente 30%, tendo sido armazenadas em sacos de polietileno.

A partir da polpa obtida, confeccionaram-se folhas de celulose, para secagem do material que seguiria para o processo de hidrólise

#### 4.2.1.3 Teor de Holocelulose

As porcentagens de holocelulose foram determinadas pelo método do clorito ácido tamponado.

#### 4.2.1.4 Lignina Klason

Foram tirados o por cento seco das amostras e pesadas 300 mg, com precisão de 0,1 mg, e transferidas, quantitativamente, para um tubo de ensaio. Logo então, foi adicionado, por meio

de pipeta, 3 mL de ácido sulfúrico 72% e o conjunto foi mantido a  $30\pm 0,2^{\circ}\text{C}$  (banho-maria), por 1 hora, misturando, frequentemente, com bastonete de vidro (130 mm x 4 mm). Após exatamente 1 hora, a mistura foi diluída com 84 mL água destilada e transferida para um frasco fechado hermeticamente, com tampa de borracha e lacre de alumínio. Os frascos foram colocados em panela de pressão doméstica, onde foi aquecida por 60 minutos. Ao final a mistura foi filtrada em cadinho de vidro sinterizado e seca em estufa, a  $105\pm 3^{\circ}\text{C}$ , até peso constante. O peso de lignina foi determinado e, finalmente, o teor de lignina do material. Então, a solução filtrada resultante do processo foi transferida para balão volumétrico de 250mL e foram retirados 100mL que foram analisados em cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) para determinação de glicose e xilose em  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  de solução para todas as etapas: cavaco inicial, cavaco pré-tratado (após auto-hidrólise), resíduo da hidrólise ácida (precipitado) e polpa celulósica.

#### **4.2.2 Furfural**

Para retirar a amostra do licor resultante do processo de pré-hidrólise, o líquido teve sua massa total medida, então pesou-se um volume conhecido de amostra de licor com pipeta volumétrica, podendo-se determinar sua densidade, tendo-se estabelecido que 1g de furfural equivale a 1 mL. Assim, foram coletados 5 mL do total produzido para esta etapa, logo então, a solução foi tratada da mesma maneira descrita anteriormente para a lignina Klason e analisada em cromatografia líquida para determinação de xilose e furfural.

#### **4.2.3 Hidrólise Ácida**

Cerca de 50 g a.s. de folhas de celulose tiveram seu tamanho reduzido (picadas ou trituradas) de forma a facilitar a hidrólise. Adicionaram-se 60 mL de ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) 72% às folhas misturando com bastão de vidro até completa homogeneização. Esta mistura foi armazenada em banho-maria por 90 min à  $30^{\circ}\text{C}$ . Adicionou-se água destilada à mistura, diluindo a solução, e esta foi levada à chapa aquecedora, a  $90^{\circ}\text{C}$ , com agitação magnética, onde permaneceu por 4h. A solução foi resfriada e centrifugada, havendo formação de duas fases. A fase sólida (precipitado), foi armazenado e seco em estufa para posterior quantificação da amostra e aplicação do método de lignina conforme descrito anteriormente de modo que a

porcentagem de lignina deste material resultante fosse quantificado. Para a fase líquida foram coletados 100 mL para análise de cromatografia líquida.

#### 4.2.4 Fermentação

Para que o processo fermentativo ocorresse foi necessário o ajuste de pH da fase líquida advinda do processo de hidrólise ácida. Assim, adicionou-se a solução hidróxido de sódio (NaOH) com concentração de  $185,6 \text{ g.L}^{-1}$  até que os valores de pH ficassem dentro do intervalo de 4 - 5, conforme o recomendado pela literatura para esta etapa. Em seguida, adicionou-se à esta solução fermento biológico seco (*Saccharomyces cerevisiae*), variando a sua quantidade em 10, 20 e 30 g. A mistura foi acondicionada em banho-maria com controle de temperatura de  $30^{\circ}\text{C}$  por 24 h, condições estas escolhidas conforme recomendado pela literatura para o melhor desenvolvimento do processo. Decorrido o tempo, foi retirado o sobrenadante da solução e coletados 100 mL para quantificação do etanol gerado através da análise de HPLC e, assim, através dos resultados avaliar a influência da quantidade da levedura na conversão de glicose a etanol.

#### 4.2.5 Análise de cromatografia líquida de alta eficiência – HPLC

Pela análise de cromatografia líquida foram determinadas as concentrações de glicose e xilose (cavaco inicial, pré-tratado polpa celulósica e resíduo), etanol (fermentado), furfural e hidroximetilfurfural (hidrólise ácida) das soluções segundo as condições descritas a seguir:

##### Condições HPLC para determinação de etanol, açúcares e ácidos orgânicos.

Coluna: HPX-87H (BIORAD, AMINEX)

Eluente: Ácido sulfúrico 0,005M

Fluxo:  $0,6 \text{ mL.min}^{-1}$

Temperatura do forno:  $60^{\circ}\text{C}$

Detector: Índice de refração (RID)

Temperatura detector:  $60^{\circ}\text{C}$

Marca e modelo: Shimadzu, modelo C- R7A

##### Condições HPLC para determinação HMF e Furfural

Coluna: C18 de 250mm de comprimento e 4mm de diâmetro externo (Hypersil; Thermo-Scientific)

Eluente: Acetonitrila: água (1:8) com 1% (volume/volume) de ácido acético

Fluxo: 0,8 mL.min<sup>-1</sup>

Temperatura do forno: 25°C

Detector: UV-Visível 276nm

Marca e modelo: Perkin-Elmer, modelo Flexar

#### 4.2.6 Rendimentos

##### - Global e de Fermentação

Pela equação da fermentação, para cada grama de hexose será gerado 0,5114g de etanol, caso a reação ocorra em sua totalidade, o que não acontece na prática.



$$\text{Relação: } \frac{\text{Massa molar do etanol}}{\text{Massa molar da hexose}} = \frac{2 \times 46,068}{180,155} = 0,5114 \quad (1)$$

Assim, esse número é conhecido como fator teórico ou estequiométrico de transformação. Como o álcool é medido tradicionalmente em volume. Esse número é expresso em litros de etanol por Kg de hexose consumida. Para a transformação das unidades basta conhecer a massa específica a 20° C que é 0,7893 g/cm<sup>3</sup>. Segundo Pasteur (1895) *apud* Lima e Marcondes (2002) devido a devido à ocorrência de reações secundárias há uma redução do rendimento teórico máximo que se pode obter da fermentação, sendo o rendimento real de 95% em etanol e outros 5% da matéria processados pelas leveduras na geração de outros subprodutos, como glicerol. Assim, foi feita a conversão estequiométrica da glicose a etanol através Equação (2).

$$V_{me}: \frac{\text{Glicose (g)} \times 0,511 \left(\frac{g}{g}\right) \times 0,95}{0,789 (g \cdot mL^{-1})} = 0,6153 \quad (2)$$

**Onde:** V<sub>me</sub> – Álcool teórico possível de ser gerado pela equação estequiométrica.



Assim, para cálculo do rendimento global do processo um método simples e prático segundo Lima e Marcondes (2002) é relacionar o teor alcoólico produzido com o volume máximo de etanol que se aferiria a partir da equação de Gay Lussac. Assim, através da Equação 3.

$$\text{Rendimento: } \frac{\text{Volume do etanol produzido}}{V_{me}} \times 100 \quad (3)$$

#### **- Rendimento de hidrólise**

O Rendimento de hidrólise equivale à razão entre quantidade real de glicose do hidrolisado (dado pela análise de HPLC) e a quantidade máxima de glicose que poderia ser formada em 100g de polpa caso a clivagem da celulose fosse completa. O Rendimento de hidrólise foi calculado pela Equação 4.

$$\text{Rendimento: } \frac{\text{Glicose HPLC}}{\text{Glicose Máxima}} \times 100 \quad (4)$$

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### - ESTUDOS PRELIMINARES

Para se chegar a metodologia empregada para este estudo em questão, foram necessárias diversas tentativas e modificações das etapas do processo de conversão da celulose a etanol. Algumas destas mudanças descritas abaixo:

**Hidrólise ácida:** Inicialmente, foi testada a hidrólise com ácido sulfúrico em sacos de polietileno a várias concentrações 2, 6, 12, 14 e 18 N em banho-maria a 90 C por um período de 4 horas, ao final não houveram mudanças significativas na polpa. Assim, testou-se o ácido diluído em digestor Regmed, não sendo obtido sucesso na operação devido vazamentos e corrosão do equipamento. Logo então, a hidrólise ácida passou a ser realizada em béquer no banho-maria com ácido sulfúrico 72% durante tempo previamente estimado. Decorrido o tempo, a solução era diluída com água e levada para chapa de aquecimento para termino do processo de hidrólise. Para estas etapas, foram testados os tempos e quantidade de reagente ( $H_2SO_4$ ), bem como foi experimentada a agitação após diluição da solução hidrolisada.

**Matéria-prima:** Ainda no estudo das melhorias que poderiam ser realizadas, logo no começo após processo de polpação eram feitas folhas e as mesmas eram picadas a mão, o que demandava muito tempo ao processo. Mais tarde, então, elas passaram a ser levadas para trituração em liquidificador e ao final, ao invés, da confecção de folhas foi experimentado secar a própria polpa celulósica, triturá-la em liquidificador e leva-la direto ao processo.

**Fermentação:** Quanto ao tipo de fermento utilizado para o processo de conversão de glicose a etanol verificou-se que o fermento seco apresentou melhor rendimento (77,5%) se comparado ao fresco (54,4%).

Após todas as adaptações e padronização da metodologia empregada, o estudo foi realizado utilizando os processos de auto- hidrólise e polpação soda (23% de álcali ativo), como etapa de pré-tratamento da matéria-prima. Seguidos então, pela hidrólise ácida com ácido sulfúrico 72% em banho-maria e posterior diluição com água em chapa aquecedora sob agitação. Para a fermentação foi utilizado fermento seco. Ao final foram analisados os rendimentos alcançados pela destilação, onde pelo método de Lutz (2008) determinou-se a densidade da amostra, conforme método descrito pelo autor, e teor alcoólico alcançado. Assim, encontrou-se a eficiência da etapa de hidrólise ácida que apresentou média de 63,5% de conversão dos polissacarídeos a monômeros (por exemplo: glicose, xilose) e para a quantidade de fermento observou-se semelhança de rendimentos para 20 e 30 g utilizados. Como

rendimento global do processo a partir de 100 g de cavaco inicial o presente estudo apresentou média de 55% de eficiência, valor que quando projetados para 1t demonstraram a viabilidade do processo frente a produção a partir da cana-de-açúcar.

## **- ANÁLISES HPLC**

### **• CAVACO INICIAL E PRÉ-TRATADO**

Para a caracterização química do substrato, cavaco inicial e após o tratamento de auto hidrólise, foram encontrados os valores resumidos na Tabela 6 a seguir:

Tabela 6 - Caracterização química do cavaco inicial e após pré-tratamento.

	<b>CELULOSE (%)</b>	<b>XILOSE (%)</b>	<b>LIGNINA (%)</b>
	51,67	17,11	28,15
<b>CAVACO INICIAL</b>	52,10	16,92	27,56
	49,99	16,66	28,03
<b>MÉDIA</b>	<b>51,25</b>	<b>17,11</b>	<b>27,91</b>
	46,12	11,69	30,93
<b>CAVACO PRÉ-TRATADO</b>	45,16	11,00	31,52
	44,89	10,65	31,87
<b>MÉDIA</b>	<b>45,39</b>	<b>11,11</b>	<b>31,44</b>

Fonte: Aatoria Própria

Conforme se observa a etapa de pré-hidrólise removeu de cerca de 35,06% da xilose contida no cavaco e 11,44% da celulose, resultado este satisfatório, mas que, ainda pode ser melhorado dependendo das condições aplicadas. Para a lignina foi observado um aumento de 11,23%. Em temperaturas superiores a 160°C parte da biomassa lignocelulósica, primeiramente hemiceluloses e, posteriormente, pequena parte da celulose e lignina, são solubilizadas isso se deve ao caráter amorfo das hemiceluloses que as tornam mais acessíveis aos reagentes. A etapa de pré-hidrólise foi realizada com intuito de retirar as hemiceluloses do cavaco inicial, uma vez que tal parcela pode gerar compostos inibidores as outras etapas do processo de obtenção de etanol (principalmente na fermentação), somando-se a isso, também podem ser utilizadas para produção de compostos de extrema importância industrial e bastante rentáveis economicamente, como o furfural. Morais (2015) ao estudar o efeito da pré-hidrólise na madeira de *Eucalyptus grandis x Eucalyptus urophylla* encontrou que as variáveis (temperatura

e tempo) influenciaram no rendimento do processo. Apenas uma pequena quantidade de celulose foi removida em comparação às hemiceluloses e uma rápida diferença ocorreu no índice de cristalinidade da celulose, entre os tratamentos. Longue Junior e Colodette (2011) estudando o processo de auto hidrólise encontrou que as máximas remoções de pentosanas foram 6,4 e 27,1% a 152 e 160°C, respectivamente, enquanto a 170 °C a remoção foi próxima de 60%. Quanto a lignina verifica-se que a lignina sofre fragmentação e a maior parte permanece nos cavacos, assim, o teor relativo de lignina nos cavacos pré-hidrolisados cresce após o tratamento. Em relação ao processo de auto hidrólise Garrote et al (2007) a 160 °C encontraram 23,1% de teor de lignina insolúvel, Longue Junior e Colodette (2011) para 170 °C chegaram a 25,4%, valores estes próximos aos encontrados neste estudo.

- **FURFURAL E ÁLCOOL FURFURÍLICO**

Através da análise de cromatografia do licor resultante do processo de pré-hidrólise foram encontrados 2,7 mg/L de furfural em 5 mL de licor, valores estes que se projetados para as 100g de cavaco utilizados dariam 2,34 g de furfural e para 1t seriam 23,4 kg do produto. Segundo GVR (2015) a demanda de furfural em 2013 foi de 300 kt/a e projetava-se que em 2020 seria de 652 kt/a. Segundo o Ministério da Indústria, Comércio Exterior e Serviços, o Brasil importou em 2016, aproximadamente, 28,6 mil toneladas de furfural. Vários países já têm uma produção significativa de furfural, como a República Dominicana (32 kt por ano), África do Sul (20 kt por ano) e a China, maior produtor mundial (70% da capacidade total da produção mundial de furfural). Juntos, os três países produzem cerca de 280 kt por ano, que representa 90% da capacidade global de produção (MARISCAL et al., 2016). Perspectiva-se que num futuro próximo o etanol venha a representar o substituto dos combustíveis fósseis e que o furfural se torne o químico por excelência que servirá de matéria prima para as mais variadas sínteses da indústria (YANG, 2014). O valor da tonelada líquida de furfural no mercado mundial segundo Sigma-Aldrich (2019) é R\$ 585,00 / kg, com uma pureza de 98,5% o que renderia para este estudo R\$ 13.689,00.

Yang (2014) afirma que existem três produtos intermediários importantes, que podem ser produzidos a partir de biomassa vegetal, são eles o etanol, o furfural e o fenol. Com estas três moléculas é possível gerar cerca de 95% dos compostos sintéticos produzidos na atualidade. O furfural, além de ser utilizado em seu estado original, pode derivar em vários outros compostos. Entre os principais usos, na escala industrial, é fonte de álcool furfurílico (que do ponto de vista comercial é o produto químico intermediário mais importante derivado do furfural, sendo o

componente principal na fabricação de muitas resinas furânicas para serem usadas na indústria de fundição). Assim, este estudo também serviria de base para a produção deste álcool cujo preço segundo Sigma-Aldrich (2019) é R\$ 540/ kg.

- **PROCESSO DE POLPAÇÃO**

O processo de polpação apresentou os rendimentos apresentado na Tabela 7.

Tabela 7 - Rendimento do processo de polpação.

<b>% Alkali Ativo</b>	<b>Cozimento</b>	<b>Rendimento</b>
<b>23%</b>	1	41,23
	2	42,44
	3	43,14
	4	40,62
	<b>Média</b>	<b>41,86</b>

Fonte: Autoria Própria.

O processo de polpação soda apresentou média de rendimento de 41,86%, valor este dentro do esperado para este estudo em questão, já que a polpa havia passado anteriormente por um processo de auto hidrólise, etapa que vem a reduzir ligeiramente os valores referenciais para o cozimento alcalino. Segundo D'Almeida (1988) a polpação química leva a um rendimento de 40-50%. Almeida e Gomide (2012) estudando o efeito de aditivos no processo de polpação encontraram para produção de polpa soda referência um rendimento de 49,5%. No entanto, Chirat, Lachenal e Sanglard (2015), submetendo cavacos de *Eucalyptus globulus* ao processo de auto hidrólise antes do cozimento, afirmaram que a remoção das xilanas facilitam o processo de deslignificação da madeira, porém custando no rendimento da mesma.

- **HIDRÓLISE ÁCIDA**

Através de análise laboratorial da polpa celulósica resultante do processo de polpação soda aplicado anteriormente foi encontrado após a aplicação de 23% de álcali ativo para 100 g do material, 1,8 g de lignina e 3,38 g de xilose, resultando assim na quantidade máxima de celulose da polpa 94,83 g. Através da análise de HPLC foram quantificadas a glicose dessa polpa de modo a resultar em um rendimento real (razão entre o produto realmente obtido e a

quantidade que teoricamente seria obtida pela quantidade de glicose) para o processo de hidrólise conforme dados apresentados na Tabela 8 abaixo.

Tabela 8- Rendimento real hidrólise ácida para 100 g de polpa celulósica.

	<b>GLICOSE MÁXIMA (g)</b>	<b>GLICOSE HPLC (g)</b>	<b>RENDIMENTO HIDRÓLISE (%)</b>	<b>LIGNINA NO RESIDUO (%)</b>
	94,82	57,98	61,13	47
	94,82	48,76	51,42	31
	94,82	47,26	49,84	30
<b>MÉDIA</b>	<b>94,82</b>	<b>52,28</b>	<b>54,13</b>	<b>36</b>

Fonte: Autoria Própria.

Conforme verificado acima o rendimento real do processo de hidrólise ácida apresentou média de 54,13%, valor abaixo do esperado, levando a possível explicação de que a quantidade de ácido utilizado foi insuficiente para o processo em questão ou o tempo utilizado para o processo não foi o adequado, já que, ao final foram geradas certa quantidade de resíduos. Este resíduo em análise de lignina Klason apresentou um valor médio de 36% em teor de lignina, desta maneira, a grande parte pode ser formada por compostos não convertidos a açúcar como celulose e hemiceluloses ou até mesmo sulfato proveniente do ácido sulfúrico (composto que após a neutralização gera o sulfato de sódio e pode ser utilizado na indústria em processo de polpação celulósica kraft na caldeira de recuperação). Segundo Hamelinck et al. (2005) *apud* BNDS e CGEE (2008) a hidrólise ácida é um processo eficiente, sendo a quantidade de açúcares fermentescíveis encontrada de aproximadamente 90%. Fouad et al. (2005) utilizando solução de ácido concentrado para hidrólise do bagaço de cana-de-açúcar encontrou um rendimento de 97,3% em açúcares. Já segundo ABASAEED (1987) em um processo de hidrólise em termos de insumos e rendimento na sacarificação o máximo de conversão de celulose para glicose é de 90%. No entanto, devido à natureza sequencial da reação, o rendimento de glicose é limitado e na prática, o rendimento máximo alcançável não excede 50-60.

Desta maneira, confirma-se a necessidade de um estudo mais aprofundado desta etapa do processo para obtenção de melhores resultados já que a cinética da reação ácida e o curso geral da degradação podem ser influenciados tanto pelo meio ácido aplicado quanto pelas características da celulose. Segundo Gurgel (2010) o meio hidrolisante pode ser caracterizado por (1) tipo de ácido, (2) concentração do ácido, (3) força do ácido, (4) temperatura e pressão, já com relação a celulose os fatores importantes são (1) se a reação ocorre em fase homogênea,

ácido concentrado, ou fase heterogênea, ácido diluído e (2) a acessibilidade. Altos rendimentos de glicose e altas taxas de reação não são simplesmente alcançadas pela remoção de lignina e hemiceluloses da matéria-prima lignocelulósica, há uma dificuldade de hidrolisar a celulose uma vez que ela é composta por regiões amorfas e cristalinas, sendo a região amorfa rapidamente hidrolisa a glicose enquanto a parte cristalina leva um tempo maior para ser convertida a uma forma prontamente hidrolisada sendo, assim, necessário um processo que rompa a celulose nas duas regiões. A temperatura também se apresenta como fator importante, porém, o impacto está relacionado à degradação dos açúcares formados pela hidrólise da celulose, logo, o controle da mesma deve ser minucioso (NEUREITER et al., 2002).

Segundo Gurgel e colaboradores (2012) os produtos resultantes da degradação das hemiceluloses e celulose, durante a reação de hidrólise ácida, são o furfural e o HMF. Fermentações realizadas na presença de furfural, hidroximetilfurfural e ácido acético demonstraram que os referidos compostos inibem o crescimento celular em concentrações abaixo de 1,0, 1,5 e 3,0 g.L<sup>-1</sup>, respectivamente. Pode-se perceber que tais inibidores foram formados na etapa de hidrólise ácida porém em concentrações muito baixas. Não foi detectada a presença de ácido acético, como pode-se observar na Tabela 9.

Tabela 9- Quantidade de compostos inibidores.

	<b>ALCALI (23%)</b>	<b>HFM (mg.L<sup>-1</sup>)</b>	<b>FURFURAL (mg.L<sup>-1</sup>)</b>
1		49,70	0,038
2		59,13	0,023
3		52,43	0,00

Fonte: Autoria Própria.

- **LIGNINA**

Conforme exposto acima o processo de polpação soda originou uma polpa celulósica com cerca de 1,8 g de lignina. Valores estes que se projetados, conforme o rendimento de 41,86% para o processo de polpação, dariam origem a 0,75 g de lignina para 100 g de cavaco e 7,53kg para 1t. Segundo Sigma-Aldrich (2019) o preço da lignina livre de enxofre no mercado é de R\$ 2.694,00 reais, assim, para este estudo em questão seriam gerados R\$ 24.326,82 reais.

- **RENDIMENTO GLOBAL**

Através da análise do cavaco inicial pode-se projetar os resultados encontrados de etanol para maiores escalas de modo a se possibilitar a comparação com os volumes utilizados nas indústrias e quantificação do rendimento global da proposta deste estudo em questão. Para a quantidade de cavaco (100g) utilizada no início do processo obteve-se os rendimento demonstrados na Tabela 10 a seguir:

Tabela 10- Rendimento global do processo para 100g de cavaco.

	CELULOSE (g)	Vme P/ 1 T DE CAVACO (L)	V real P/ 100g CAVACO (mL)	V real DE ETANOL P/ 1 T CAVACO (L)	RENDIMENTO GLOBAL %
			11,69	116,69	37,00
10	51,25	315,32	10,41	104,15	33,02
			10,78	107,83	34,19
<b>MÉDIA</b>			<b>10,96</b>	<b>109,55</b>	<b>34,74</b>
			10,34	103,39	32,78
20	51,25	315,32	11,43	114,28	36,24
			11,34	113,36	35,95
<b>MÉDIA</b>			<b>11,04</b>	<b>110,34</b>	<b>34,99</b>
			12,41	124,07	39,34
30	51,25	315,32	11,55	115,53	36,64
			11,69	116,87	37,06
<b>MÉDIA</b>			<b>11,88</b>	<b>118,82</b>	<b>37,68</b>

Fonte: Autoria Própria.

Um rendimento global médio de 34,74, 34,99 e 37,68% foram obtidos quando comparadas a quantidade de etanol gerado pelo processo empregado neste estudo em relação a quantidade máxima estequiométrica que seria gerada a partir dos cavacos iniciais utilizados no processo. Em relação ao volume uma média de 109,55, 110,34 e 118,82 L/t para 10, 20 e 30g respectivamente, demonstrando que apesar das melhoras que devem ser realizadas na etapa de hidrólise, conforme constatado anteriormente, o processo apresentou rendimentos muito satisfatórios se comparados as matérias-primas utilizadas hoje. Pode-se observar também que a produção para 10 e 20 g foram bastante semelhantes e para 30 g houve um ligeiro aumento. Se tais valores fossem projetados para hectare, já que em média um hectare com espaçamento 3 x 3 gera 152 t de madeira seriam produzidos em média 18.063,68 L/há. Segundo Ogata (2012)



1 tonelada de cana é capaz de produzir cerca de 90 L deste biocombustível. Em comparação ao milho, uma tonelada do material gera 440 L/t, contudo, o milho produz entre 15 a 20 toneladas por hectare, dentre os quais 50% constituem sua matéria seca. Ou seja, apenas entre 7,5 e 10 toneladas por hectare de milho são utilizados para a fabricação do etanol. Ao se comparar o rendimento das culturas em litros por hectare a cana-de-açúcar produz de 5.400 – 10.800 L, em contrapartida o milho de 3.450 a 4.600 L (BNDES; CGEE, 2008). Nwakaire, Ezeoha e Ugwuishiwu (2013) em seu experimento com serragem coletada de uma serraria de uma espécie não especificada obteve 10 kg de serragem deram 500 cm<sup>3</sup> de etanol, ou seja, para 1t obteve 50L de etanol, o que vêm também a demonstrar que o método utilizado neste estudo é eficaz.

### • **FERMENTAÇÃO**

O rendimento real do processo de fermentação foi calculado em função do álcool produzido (% m/v) em relação aos açúcares consumidos (% m/v) dados pela análise do HPLC conforme pode-se observar na Tabela 11 abaixo:

Tabela 11 - Rendimento Fermentação para 100g de polpa.

<b>FERMENTO (g)</b>	<b>GLICOSE HPLC (g)</b>	<b>V me (mL)</b>	<b>ETANOL OBTIDO (mL)</b>	<b>RENDIMENTO REAL (%)</b>
10	47,26	29,04	27,88	96,00
			24,88	85,56
			25,76	88,59
<b>MÉDIA</b>			<b>26,17</b>	<b>90,05</b>
20	48,76	29,55	24,70	83,60
			27,30	91,00
			27,08	90,26
<b>MÉDIA</b>			<b>26,36</b>	<b>88,29</b>
30	57,98	35,67	29,64	83,09
			27,60	77,37
			27,92	78,27
<b>MÉDIA</b>			<b>28,38</b>	<b>79,57</b>

Fonte: Autoria Própria.

O processo de fermentação mostrou uma eficácia de 90,05% para 10 g de fermento, para 20 g 88,29 e para 30g 79,57% na conversão da glicose em etanol real pela análise de HPLC, rendimentos ótimos para esta etapa. Segundo Lima, Basso e Amorim (2001) a eficiência fermentativa atinge de 90 a 92% do rendimento estequiométrico, havendo o consumo de açúcar para formação de biomassa celular e subprodutos. Teoricamente, 100 gramas de glicose

produzirão 51,4 g de etanol e 48,8 g de dióxido de carbono. No entanto, na prática, os microrganismos usam um pouco da glicose para o crescimento e o rendimento real é inferior a 100%. Além de que, outros produtos podem ser formados, dentre eles o glicerol e ácidos orgânicos, principalmente acético e succínico, além de outros álcoois e levedura. Assim, por estes motivos costuma-se observar rendimentos na fermentação alcoólica industrial da ordem de 90 % (DIAS, 2008). Zhu et al. (2009) apresentaram 91,6% de eficiência na produção de etanol com base na concentração inicial de glicose após a hidrólise da polpa de celulose, associando alta à facilidade da fermentação a presença apenas de glicose no meio, devido à ausência de xilanases no complexo enzimático não houve a formação de açúcares C5, os quais não são fermentados pela levedura utilizada. Também Zhang et al. (2009) realizaram a fermentação alcoólica de diferentes concentrações de glicose após hidrólise, partindo de 149 g.L<sup>-1</sup> de glicose produziram aproximadamente 60 g.L<sup>-1</sup> de etanol após 12 horas de fermentação e iniciando a fermentação alcoólica com 112 g.L<sup>-1</sup> de glicose resultou em 44 g.L<sup>-1</sup> de etanol, chegando a rendimentos de 86 e 81% respectivamente.

Para a quantidade de fermento utilizada no processo de 10 e 20 g os resultados foram bastante próximos, já para 30g houve um decréscimo de rendimento apesar da maior quantidade de álcool produzido. Para este último ocorreu um ligeiro acréscimo da quantidade de etanol obtido, uma diferença na produção de etanol de 2,21 mL se comparada a de 10 g, o que pode ter acontecido devido a uma maior quantidade de glicose resultante do processo de hidrólise para a solução utilizada. Assim, segundo este estudo, 10g de fermento seriam mais economicamente viáveis e já seriam suficientes para uma boa conversão dos açúcares a etanol, ou seja, uma proporção de 1 g de fermento pra cada 4,7 g.L<sup>-1</sup> de glicose. Segundo Lima et al (2001) quanto maior a concentração de microrganismos no meio fermentativo, o consumo de açúcares será maior e logo a produção de etanol também, até certos intervalos, pois concentrações muito elevadas podem levar a competição por alimento, nutrientes, minerais e vitaminas (Lima et al., 2001). Sassner, Galbe e Zacchi (2006) utilizando 3,3 g.L<sup>-1</sup> de levedura de padeiro (*Saccharomyces cerevisiae*), obtiveram 32 g.L<sup>-1</sup> de concentração de etanol, um rendimento global de etanol de 76% do teórico para cavacos de uma espécie nativa *Salix sp*. No Brasil, 70-80% dos as destilarias utilizam processos descontínuos alimentados para com concentrações de células de levedura entre 8% e 17% atingem tempos de fermentação de apenas 6-10 h e concentrações finais de etanol de até 11% v / v (11ml de álcool em 100 ml de água), correspondendo a uma média rendimento de etanol de 91% (BRETHAUER; WYMAN, 2010). Bondancia (2016) utilizou em seu estudo para a conversão de polpa celulósica Kraft branqueada

a etanol 2G um quantidade de 25 g.L<sup>-1</sup> de fermento para um volume de 30 ml do hidrolisado com 134,56 de glicose, ou seja, utilizou uma aproximadamente 1 g de fermento para 4 g.L<sup>-1</sup> de glicose obtendo um rendimento de 95,5%, justificando tal valor devido a presença baixa quantidade de constituintes hemiceluloses e lignina, que poderiam interferir negativamente na produção de etanol, a esse fato e a alta concentração de glicose no hidrolisado pode-se associar o alto rendimento na produção de etanol.

## 6 CONCLUSÃO

- A auto-hidrólise removeu cerca de 35,06% das hemiceluloses e 11,44% de celulose, sendo estes valores considerados muito baixos para esta etapa. Assim, a mesma pode ser melhorada dependendo das condições aplicadas no processo.

- A polpação soda apresentou rendimento de 41,86%, valor este dentro do esperado para a polpação química após a etapa de auto-hidrólise.

- A hidrólise ácida apresentou média de conversão de glicose a etanol de 54,13%, rendimento abaixo do esperado. Desta maneira, são necessários estudos para melhorar a etapa de hidrólise, visto que, a escolha da rota de hidrólise é de fundamental importância no processo de produção de etanol de segunda geração já que é nesta etapa que ocorre efetivamente a produção de açúcares fermentescíveis que podem ser convertidos a etanol.

- Para a concentração de fermento observou-se que a utilização de 10 g de fermento, frente a 20 g e 30 g, foi suficiente para produção de etanol. Sendo estabelecida a relação de 1 g de fermento para 4,7 g.L<sup>-1</sup> de glicose do meio.

- A nova rota de conversão de matérias lignocelulósicas a etanol, proposta neste trabalho, se mostrou eficiente ao apresentar um rendimento global de 37,68% com a produção de 11,88 mL de etanol a cada 100 g de cavaco. Se projetado para 1t de matéria-prima seriam produzidos 118,82 L valor este maior do que o da cana-de-açúcar, cuja produção é de 90 L por tonelada, material largamente utilizado nos dias de hoje.

- O processo mostrou-se promissor também para a produção de outros componentes pelo conceito de biorrefinaria como furfural, álcool furfurílico e lignina para produção de derivados. No processo em questão seriam gerados R\$ 13.689,00 reais pelo furfural, 24.326,82 pela lignina e cerca de R\$ 190,11 pelo etanol, valores estes que somados são R\$ 38.205,93 reais. Assim, o processo como um todo, não só produzindo o etanol e sim aproveitando todos os constituintes da matéria-prima, conceito de biorrefinaria, seriam muito viáveis economicamente. Comparando-se a produção de polpa celulósica, 1tonelada é vendida a U\$ 652,51 dólares que convertidos para real geram R\$ 2.440,38/ t.

## REFERÊNCIAS

- ABASAEED, A. E. **kinetic and process studies on free and solid acid catalyzed hidrolisis of biomass subtrates**. 1987. 191 f. Tese (Doutorado) – Universidad de Auburn, Alabama, 1987.
- ALMEIDA, D. P.; GOMIDE, J. J. (2012). Estudo do efeito de antraquinona e de surfactante na polpação soda. **In: Proceedings of the 45th ABTCP Annual Congress**. São Paulo. Brazil. 10f
- ALVIM, J. C. et al. Biorrefinarias: Conceitos, classificação, matérias primas e produtos. **Journal of Bioenergy and Food Science**. Macapá, v.1, n. 3, p. 61-77, out. /dez. 2014.
- AMARAL, F. S. **Influência do conjunto pH, temperatura e concentração de sulfito na fermentação alcoólica de mostos de sacarose**. 2009. 107 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2009.
- AMORIM, H.V.; BASSO, L.C.; ALVES, D.G. Processos de produção de álcool – controle e monitoramento. Piracicaba: FERMENTEC/FEALQ/ESALQ-USP, 1996, 93p.
- ASSUMPÇÃO, S. M. N. de. **Pré-tratamento químico combinado do bagaço de cana visando a produção de etanol de segunda geração**. 2015. 99 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Escola Politécnica, Universidade Federal da Bahia, Salvador - BA, 2015.
- BACOVSKY D, et al. Status of Advanced Biofuels Demonstration Facilities in 2012. In Status of Advanced Biofuels Demonstration Facilities in 2012: A Report to IEA Bioenergy Task. **IEA Bioenergy Task** v. 39; 2013.
- BADGER, P. C. Ethanol from cellulose: a general review. **Trends in new crops and new uses**. p.17-21. mar 2002.
- BELLUCO, A. E. S. **Alterações fisiológicas e de composição em *Saccharomyces cerevisie* sob condições não proliferantes**. 2001. 100 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, USP (Universidade de São Paulo), Piracicaba, 2001.
- Bioetanol de cana-de-açúcar: energia para o desenvolvimento sustentável. Organização **BNDES** e **CGEE**. Rio de Janeiro: BNDS, 2008. 316 p.
- BORGES, F. C., TRIERWEILER, J.O., Revisão de Biorrefinarias e Propostas de modelo com estrutura descentralizada, Seminário de Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, 2009.
- BRETHAUER, S; WYMAN, C E. Continuous hydrolysis and fermentation for cellulosic ethanol production. **Bioresource technology**, v. 101, n. 13, p. 4862-4874, 2010.

BRETHAUER, S; WYMAN, C. E. Continuous hydrolysis and fermentation for cellulosic ethanol production. **Bioresource Technology**, California, v. 101, n. 13, p.4862-4874, nov. 2009.

CABRAL, G. J. et al. **Cachaça**. UFSC Florianópolis.2006. Disponível em <[www.enq.ufsc.br/labs/probio/disc\\_eng1/cachaca.doc](http://www.enq.ufsc.br/labs/probio/disc_eng1/cachaca.doc)> acessado em: 21 de ago. 2018.

CAMILI, E. A. **Parâmetros operacionais do processo de produção de etanol a partir de polpa de mandioca**. 2011. 148 f. Tese (Doutorado) - Curso de Agronomia, Faculdade de Ciências Agrônômicas da Unesp, Botucatu, 2010.

CARDOSO, A. L. **Biorrefinaria: investigação de processos físico-químico, fermentativo e térmico para o aproveitamento da serragem de eucalipto**. 2009. 110 f. Tese (Doutorado) - Curso de Química, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2009.

CARDOSO, M. G. **Produção de aguardente de cana**. 3.ed. Lavras - MG: Editora UFLA, 340p, 2006.

CHERUBINI, F.; JUNGMEIER, G.; WELLISCH, M.; et al. **Toward a common classification approach for biorefinery systems**. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, v. 3, p. 534–546, 2009.

CHIES, V.; PICHELLI, K. R. Menos volume, mais valor pesquisador defende a lógica de biorrefinarias. **Agroenergia em Revista**, v. 4, n. 9, dez. 2015. p. 54-55.

CHIRAT, C.; LACHENAL, D.; SANGLARD, M. Extraction of xylans from hardwood chips prior to kraft cooking. **Process Biochemistry**, v. 47, p. 381-385, jan. 2012.

CINELLI, B. A. **Produção de etanol a partir da fermentação simultânea à hidrólise do amido granular de resíduo agroindustrial**. 2012. 200 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012.

COLODETTE, J. L. **Biorrefinaria da madeira - o novo foco da pesquisa em celulose e papel**. Viçosa: Laboratório de Celulose e Papel, 2012. Color.

D'ALMEIDA, M. L. O. **Celulose e papel - Tecnologia de fabricação do papel**. 2. ed. São Paulo: SENAI-IPT. v. 2. 1988. 964p.

DEMIRBAS, A. Biofuels sources, biofuel policy, biofuel economy and global biofuel projections. **Energy Conversion and Management**, v. 49, n. 8, 2106-2116, 2008.

DIAS, M. O. de Souza. **Simulação do processo de produção de etanol a partir do açúcar e do bagaço, visando a integração do processo e a maximização da produção de energia e excedentes do bagaço**. 2008. 282 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Química, Faculdade de Engenharia Química, Campinas, 2008

DOE US. **Breaking the biological barriers to cellulosic ethanol: a joint research Agenda, DOE/SC-0095**. U.S. Department of Energy, Office of Science and Office of Energy Efficiency and Renewable Energy, 206 p., 2006.

DRABER, K. M. M. **Etanol de segunda geração já é realidade**. 2013. 54f. Monografia (Trabalho de Conclusão do Curso de Graduação em Engenharia Bioquímica) - Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo, Lorena - SP, 2013.

FERNADES, S; GASPAR, A. Pré-extração de hemiceluloses da madeira - auto hidrólises modificadas e influência de tratamentos biológicos nas aparas de *Eucalyptus globulus* na performance da auto-hidrólise. **Sociedade Portuguesa de Biotecnologia**, v. 3, n. 2, p.15-16, abr. 2013.

FERRARI, F. C. dos Santos. **Fatores operacionais e cinética do processo fermentativo para otimização da produção de etanol em escala industrial**. 2013. 74 f. Tese (Doutorado) - Curso de Microbiologia Agropecuária, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2013.

FOELKEL, C. As biorrefinarias integradas no setor brasileiro de fabricação de celulose e papel de eucalipto. **Eucalyptus Online Book & Newsletter**, 2012, rev., 2016.

FOELKEL, C. E. B.; HERRERA, J.; VESZ, J. B. Controle das emissões de H<sub>2</sub>S no forno de cal através de suas variáveis operacionais. **Anais do 3º Congresso Latino-Americano de Celulosa y Papel**, ABCP, São Paulo, Brasil, 1983

FOUAD, B.; JOVER, J.; GONZALES, E. Hydrolysis of bagasse with sulfuric acid in obtaining bioethanol. **Ingenieria Quimica**. v.37, n. 425, p. 240-248, 2005.

FRANCO, F. V. **2000/2018 - Evolução da produção e venda de Etanol no Brasil**. 2018. Disponível em: <[https://www.agrolink.com.br/colunistas/coluna/2000-2018---evolucao-da-producao-e-venda-de-etanol-no-brasil\\_412862.html](https://www.agrolink.com.br/colunistas/coluna/2000-2018---evolucao-da-producao-e-venda-de-etanol-no-brasil_412862.html)>. Acesso em: 10 fev. 2019.

GALLARDO, J. C. M. **Produção de etanol a 40-42°C em uma cocultura de *saccharomyces cerevisiae* e *issatchenka orientalis***. 2010. 114 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Biotecnologia, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2010.

GARROTE, G. et al. Effects of Eucalyptus globulus wood autohydrolysis conditions on the reaction products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 22, p. 9006-9013, sep. 2007.

GEORGIEVA, T.I., AHRING, B.K. Evaluation of continuous ethanol fermentation of dilute-acid corn stover hydrolysate using thermophilic anaerobic bacterium thermo anaerobacter BG1L1. **Applied Microbiology and Biotechnology**. v. 77, n. 1, 61–68, 2007.

GOMIDE, J. L.; GOMES, F. J. B. Seção II: Produção e composição das polpas não branqueadas. In: COLODETTE, J. L.; GOMES, F. J. B. (Eds.). **Branqueamento de polpa celulósica**: da produção da polpa marrom ao produto acabado. Viçosa: UFV, 2015, cap.1, p. 59-115.

GRANBIO. **Bioflex I**. 2017. Disponível em: <<http://www.granbio.com.br/conteudos/biocombustiveis/>>. Acesso em: 15 de junho de 2018.

GRASEL, F. dos Santos et al. Inovação em Biorrefinarias I. Produção de Etanol de Segunda Geração a partir de Capim-Elefante (*Pennisetum purpureum*) e Bagaço de Cana-de-Açúcar (*Saccharum officinarum*). **Revista Virtual de Química**, Curitiba, v. 9, n. 1, p.1-11, dez. 2016.

GURGEL, L. V. A. **Hidrólise ácida de bagaço de cana-de-açúcar: estudo cinético de sacarificação de celulose para produção de etanol**. 2010. 315 p. Tese (Doutorado em Ciências e Área de Concentração em Físico-Química) - Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo, São Carlos - SP, 2010.

GURGEL, L.V. A.; et al. Characterization of depoly-merized residues from extremely low acid hydrolysis (ELA) of sugarcane bagasse cellulose: Effects of degree of polymerization, crystallinity and crystallite size on thermal decomposition. **Industrial Crops and Products**, Oxford, v. 36, n. 1, p. 560-571, 2012

GVR: GRAND VIEW RESEARCH: Furfural market analysis by application (furfuryl alcohol, solvent) and segment forecasts to 2020. Relatório publicado por Grand View Research em janeiro de 2015.

HOFFMANN, Rodolfo. Segurança Alimentar e Produção de Etanol no Brasil. **Segurança Alimentar e Nutricional**, Campinas, v. 13, n. 2, p.1-5, fev. 2006

INDÚSTRIA BRASILEIRA DE ÁRVORES. **Cenários Ibá**. 50. ed. São Paulo. Disponível em: < [http://iba.org/images/shared/Cenarios/43\\_cenarios.pdf](http://iba.org/images/shared/Cenarios/43_cenarios.pdf)>. Acesso em: 17. jul. 2018.

KLOCK, U. **Nota de aula expositiva Disciplina Polpa e Papel**. UFPR - DEIM. Disponível em: <[www.madeira.ufpr.br/disciplinasklock](http://www.madeira.ufpr.br/disciplinasklock)> Acesso em: 8 ago. 2018.

LEITE, R. C.; CORTEZ, L. A. B. E. O Etanol Combustível no Brasil. In: BRASIL. Ministério das relações exteriores – MRE (Org.). **Biocombustíveis no Brasil: realidades e perspectivas**. Brasília: Arte Impressora Gráfica LTDA, 2007.p. 60-75.

LEITE, R. C.; LEAL, M. R. L. **O biocombustível no Brasil**. Novos estudos: CEBRAP, n.78, p.15-21, 2007

LEVI, E. R. **Análise do mercado e estimação das demandas de cana de açúcar, açúcar e etanol brasileiro**.2009. 57 f. TCC (Graduação) - Curso de Engenharia de Petróleo, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2009.

LIMA, L. R; MARCONDES, A. A. **Álcool carburante: uma estratégia brasileira**. Curitiba: Editora UFPR, 248p., 200. 2002

LIMA, U. A.; BASSO, L. C.; AMORIM, H. V. Produção de etanol. In: LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W. **Biotecnologia Industrial**. (Ed.) São Paulo. v. 3, p. 1-43, 2001.

LONGUE JÚNIOR, D.; COLODETTE, J. L. Remoção de hemiceluloses da madeira por tratamento de auto-hidrólise. **Ciência Florestal**, v. 21, n. 3, p. 541-550, jul.-set. 2011.



LONGUE JÚNIOR, Dalton. **Biorrefinaria da madeira de eucalipto associada à indústria de celulose e papel**. 2013. 132f. Tese (Doutorado) – Curso de Ciência Florestal, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2013.

LORA, E. E. S.; VENTURINI, O. J. **Biocombustíveis**. Rio de Janeiro: Interciência Ltda, 2012. 1200 p.

LUTZ, I.A. **Métodos Físico-químicos para análises de alimentos**. Ed. 4. 1ª Edição Digital. 2008. Disponível em <[http://www.crq4.org.br/sms/files/file/análisedealimentosial\\_2008.pdf](http://www.crq4.org.br/sms/files/file/análisedealimentosial_2008.pdf)> Acesso em: 25 de ago. 2018.

MAGALHÃES, T. S. **Estudo de pré-tratamentos de bagaço de cana para produção de etanol celulósico por hidrólise enzimática**. 2011. 63 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, São José do Rio Preto, 2011.

MAMBRIM FILHO, O. **Processo híbrido de polpação etanol-soda de madeira de eucalipto, com baixo teor alcoólico**. 1989. 236 f. Tese (Doutorado) - Curso de Química, Unicamp, Campinas, 1989.

MARISCAL, R. et al. Furfural: a renewable and versatile platform molecule for the synthesis of chemicals and fuels. **Energy Environ. Sci.**, v. 9, n. 4, 2016.

MARTIN, C. Biorrefinaria se aproxima do setor. **O Papel**, São Paulo, p. 24-30, fev. 2013.

MDIC, **Dados do Comércio Exterior**. Rio de Janeiro: Ministério do Desenvolvimento, da Indústria e Comércio Exterior, Jul. 2016. Anual. Disponível em: <<http://aliceweb.desenvolvimento.gov.br/>> Acesso em: jan 2019.

MELO, H. F. **Resposta ao estresse ácido em leveduras da fermentação alcoólica industrial**. 2006. 118 f. Dissertação (Mestrado) – Engenharia Química, Universidade Federal de Uberlândia, Recife, 2006.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Portaria Mapa nº 143, de 27 de janeiro de 2007. **Mistura Carburante (etanol Anidro - Gasolina)**.

MORAIS, A. P. S. **Efeito do processo de auto-hidrólise e caracterização química da madeira de *eucalyptus grandis* x *eucalyptus urophylla* e *eucalyptus grandis***. 2015. 105 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciência Florestal, Faculdade de Ciências Agrônômicas da Unesp, Botucatu, 2015

NEUREITER, M. et al. Dilute-acid hydrolysis of sugarcane bagasse at varying conditions. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 98, p. 49-58, 2002.

NOVACANA. **GranBio inicia produção de etanol de segunda geração**. 2014. Disponível em: <<https://www.novacana.com/n/etanol/2-geracao-celulose/granbio-producao-etanol-segunda-geracao-240914>>. Acesso em: 10 fev. 2019.

OGATA, B.H. **Caracterização das frações celulose, hemiceluloses e lignina de diferentes genótipos de cana-de-açúcar e potencial de uso em biorrefinarias**. 2013. 108f. Dissertação (Mestrado) – Ciências. Área de Concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013.

PACHECO, T. F. Produção de etanol: Primeira ou Segunda Geração. Circular Técnica 04, p. 1 – 6. 2011.

PHILIPPIDIS, G. P. & SMITH, T. K. “Limiting factors in the simultaneous saccharification and fermentation process for conversion of cellulosic biomass to fuel ethanol”. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v. 51/52, 1995.

PITARELO, A. P. **Produção de etanol celulósico a partir do bagaço de cana pré-tratado por explosão a vapor**. 2013. 162 f. Tese (Doutorado) - Curso de Química, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

RAMOS, L. P. The chemistry involved in the steam treatment of lignocellulosic materials. *Química Nova*, v. 26, n. 6, p. 863-871, mai. 2003

RFA. 2014. Homegrown for the Homeland: Ethanol Industry Outlook 2014, Disponível em <[www.ethanolrfa.org/resource/outlook/](http://www.ethanolrfa.org/resource/outlook/)>. Acesso em: 21 de ago. 2018.

RODIGUIERI, H.R. **Rentabilidade econômica comparativa entre plantios florestais e sistemas agroflorestais com erva-mate, eucalipto e pinus e as culturas do feijão, milho, soja e trigo**. Colombo: EMBRAPA-CNPQ, 1997. 36p. (EMBRAPA-CNPQ, Circular Técnica, 26).

RODRIGUES, J. A. R. Do engenho à biorrefinaria. A usina de açúcar como empreendimento industrial para a geração de produtos bioquímicos e biocombustíveis. *Química Nova*, Campinas, v. 34, n. 7, p.1242-1254, maio 2011.

ROSA, S. S. da; GARCIA, J. L. F. O etanol de segunda geração: limites e oportunidades. *Revista do BNDES*, n. 32, p. 117-156, dez. 2009.

RUNGE, C. F.; SENAUER, B. **A bolha do etanol**. 2007. Disponível em: <<https://www1.folha.uol.com.br/folha/mundo/ult94u106159.shtml>>. Acesso em: 12 ago. 2018.

SAAD, M. B. W. **Avaliação Técnica preliminar da produção de etanol via hidrólise enzimática do bagaço da cana**. 2010. 138 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Biotecnologia Industrial, Universidade de São Paulo, Lorena, 2010.

SADDLER, J. N.; GREGG, D. J. Factors Affecting Cellulose Hydrolysis and the Potential of Enzyme Recycle to Enhance the Efficiency of an Integrated Wood to Ethanol Process. *Biotechnology and Bioengineering*, British, v. 51, n. 4, p.375-383, fev. 1996.

SASSNER P, GALBE M and ZACCHI G, Bioethanol production based on simultaneous saccharification and fermentation of steam-pretreated Salix at high dry-matter content. *Enzyme Microb Technol* v. 39, p 756–762, 2006.

SIGMA-ALDRICH. **Furfural**, 2019. Disponível em: <<https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/w248908?lang=pt&region=BR>>. Acesso em: 18 jan. 2019.

SIGMA-ALDRICH. **Lignin, álcali**, 2019. Disponível em: <<https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/471003?lang=pt&region=BR>>. Acesso em: 18 jan. 2019.

SILVA JUNIOR, Francides Gomes da. Biorrefinaria conceito aplicável ao setor florestal. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 8, n. 6, p.45-49, jun. 2008.

SOUZA, C. S. **Avaliação da produção de etanol em temperaturas elevadas por uma linhagem de *S. cerevisiae***. 2009. 49 f. Tese (Doutorado) – Curso de Biotecnologia. Instituto Butantan (IPT), São Paulo, 2009.

SOUZA, D. T.; SCHULTZ, E. L.; DAMASO, M. C. T. Potencial da Indústria de papel e celulose no contexto de biorrefinaria. **Agroenergia em Revista**, v. 4, p. 58 - 63, dez. 2015.

SOUZA, J. L. U de; MONTEIRO; R.A.B. FATORES INTERFERENTES NA FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA PARA A PRODUÇÃO DE ETANOL. **Cadernos de Pós-graduação da Fazu**, Uberaba, v. 2, p.1-8, fev. 2011.

SREE, N. K.; SRIDHAR, M.; SURESH, K.; BANAT, I. M.; RAO, L. V. Isolation of thermotolerant, osmotolerant, flocculating *Saccharomyces cerevisiae* for ethanol production. **Bioresour. Technol.**, v. 72, p. 43-46, 2000.

TARGUETA, J. **BIORREFINARIAS: UMA TENDÊNCIA PARA OS PROCESSOS INDUSTRIAIS**. Disponível em: <<https://betaeq.com.br/index.php/2017/08/23/biorrefinarias/>>. Acesso em: 12 ago. 2018.

SUAREZ, C. A. G. **Otimização da produção de etanol 2G a partir de hexoses e pentoses**. 2014. 165 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química e Área de Concentração em Pesquisa e Desenvolvimento de Processos Químicos) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos - SP, 2014.

TATONI, W. M. **Avaliação de projetos de investimento em cogeração de energia utilizando bagaço de cana-de-açúcar em biorrefinarias a partir do uso da teoria das opções reais**. 2012. 112 f. Tese (Doutorado) - Curso de Agroenergia, Escola de Economia de São Paulo-FGV, São Paulo, 2012.

TÁVORA, F. L. **História e economia dos biocombustíveis no Brasil**. Brasília: CECS, 2011.

TEIXEIRA, Vitor et al. Influência do conjunto pH, temperatura e concentração de sulfito na fermentação alcoólica de mostos de sacarose. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA AGROPECUÁRIA, AGRÍCOLA E AMBIENTAL (CBMAAA, 1., 2016, Jaboticabal. **Anais....** Jaboticabal: Ciência e Tecnologia, 2016. v. 8, p. 1 - 5.

UNICA – União da Indústria de Cana-de-Açúcar. **Produção e Uso do Etanol Combustível no Brasil: respostas às questões mais frequentes**. São Paulo: UNICA, 2007. 70 p. Disponível

em: <[http://www.ie.ufrj.br/infosucro/biblioteca/bic\\_Unica\\_ProducaoUsoEtanol.pdf](http://www.ie.ufrj.br/infosucro/biblioteca/bic_Unica_ProducaoUsoEtanol.pdf)>. Acesso em: 03 nov. 2018

VAN REE, R.; ANNEVELINK, B. Status Report Biorefinery 2007. **Agrotechnology and Food Sciences Group**, 2007. 110p.

VAZ JUNIOR, S. **Biorrefinarias: cenários e perspectivas**. Brasília: Embrapa Agroenergia, 2011. 176 p.

YANG, G.. **Future Energy, Environment, and Materials**. EUA: Wit Press, 2014. 908 p.

ZHANG, X. et al. High consistency enzymatic hydrolysis of hardwood substrates. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 23, p. 5890-5897, 2009.

ZHANG, Y. H. P.; MICHAEL, E. H.; JONATHAN, R. M. Outlook for cellulase improvement: screening and selection strategies. **Biotechnol. Advan.**, v.24, p. 452- 481, 2006.

ZHENG, Y; PAN, Z; ZHANG, R. Overview of biomass pretreatment for cellulosic ethanol production. **Int J Agric & Biol Eng**, USA, v. 2, n. 3, p.51-68, set. 2009.

ZHU, H. et al. Mixing studies in a model aerated bioreactor equipped with an up- or a down-pumping 'Elephant Ear' agitator: Power, hold-up and aerated flow field measurements. **Chemical Engineering Research & Design**, v. 87, n. 3A, p. 307-317, 2009.

ZHU, J. Y.; S, Ronald; LUO, X. Integrated production of nano-fibrillated cellulose and cellulosic biofuel (ethanol) by enzymatic fractionation of wood fibers. **Green Chemistry**. EUA, p. 1339-1344. mar. 2011.