RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 03/04/2021.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP

CAMPUS DE JABOTICABAL

FERMENTAÇÃO DE MOSTO OBTIDO DA HIDRÓLISE DE SORGO SACARINO PARA PRODUÇÃO DE ETANOL POR *Pichia kudriavzevii*

Letícia Fernanda Tralli

Tecnóloga em Biocombustíveis

2019

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP

CAMPUS DE JABOTICABAL

FERMENTAÇÃO DE MOSTO OBTIDO DA HIDRÓLISE DE SORGO SACARINO PARA PRODUÇÃO DE ETANOL POR *Pichia kudriavzevii*

Letícia Fernanda Tralli

Orientadora: Profa. Dra. Márcia Justino Rossini Mutton

Coorientadora: Dra. Lidyane Aline de Freita

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veteriárias - Unesp, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Microbiologia Agropecuária

2019

T769f

Tralli, Letícia Fernanda

Fermentação de mosto obtido da hidrólise de sorgo sacarino para produção de etanol por Pichia kudriavzevii / Letícia Fernanda Tralli. -- Jaboticabal, 2019

89 p. : il., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientadora: Profa Dra Márcia Justino Rossini Mutton

Coorientadora: Dra Lidyane Aline de Freita

1. Biocombustíveis. 2. Processo Fermentativo. 3. pH. 4. Temperatura. 5. Levedura fermentadora de pentoses. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: FERMENTAÇÃO DE MOSTO OBTIDO DA HIDRÓLISE DE SORGO SACARINO PARA PRODUÇÃO DE ETANOL POR *Pichia kudriavzevii*

AUTORA: LETÍCIA FERNANDA TRALLI
ORIENTADORA: MÁRCIA JUSTINO ROSSINI MUTTON
COORIENTADORA: LIDYANE ALINE DE FREITA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em MICROBIOLOGIA AGROPECUÁRIA, pela Comissão Examinadora:

Prof.ª Dr.ª MÁRCIA JUSTINO ROSSINI MUTTON
Tecnologia / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Profa. Dra. SANDRA REGINA CECCATO ANTONINI
Departamento de Tecnologia Agroindustrial e Sócio-Economia Rural-UFSCar / Araras/SP

Profa. Dra. OSANIA EMERENCIANO FERREIRA
UEMG / Universidade do Estado de Minas Gerais - Frutal/MG

Jaboticabal, 03 de abril de 2019

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

LETÍCIA FERNANDA TRALLI - nasceu aos 09 de maio de 1994, na cidade de Taquaritinga, estado de São Paulo. Em janeiro de 2012 ingressou no curso de Tecnologia em Biocombustíveis na Faculdade de Tecnologia de Jaboticabal, recebendo o título de Tecnólogo em Biocombustíveis em 2016. Realizou Intercâmbio pelo Programa “Ciências sem Fronteiras”, durante 1 ano na Northen Virginia Community College (NOVA), em Virgínia nos Estados Unidos. A partir de 2016 passou a integrar os grupos de pesquisa “Processos Biotecnológicos aplicados à Agroindústria” e “Fisiologia e Manejo Sustentável da cana-de-açúcar”, participando de diversos projetos. Em 2017 ingressou no Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agropecuária, em nível de mestrado da FCAV - UNESP, no qual obterá o título de Mestre em abril de 2019.

DEDICO

Aos meus pais, Roberto e Lucilene, como forma de retribuir todo esforço, incentivo e amor.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pelo dom da vida e por Ele não me deixar desistir nos momentos de dificuldade.

Ao Programa de Pós-Graduação de Microbiologia Agropecuária.

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/UNESP, campus de Jaboticabal e aos professores do Programa de Pós-graduação pelo aperfeiçoamento profissional.

Agradeço imensamente a Profa. Dra. Márcia Justino Rossini Mutton pela orientação, pela oportunidade e pelo companheirismo, sempre me incentivando a buscar mais e o melhor. E ao Prof. Dr. Miguel Ângelo Mutton, que se fez presente na rotina do laboratório, procurando nos auxiliar da melhor maneira possível.

À minha Co-orientadora e amiga Dra. Lidyane Aline de Freita, que esteve ao meu lado, disposta a transmitir seus conhecimentos e contribuir na elaboração deste trabalho.

Aos meus pais Roberto e Lucilene, e meu querido irmão Leonardo, pelo apoio, incentivo e amor incondicional, se hoje estou alcançando esta realização é porque vocês me deram condições e sempre estiveram ao meu lado.

Ao meu querido amor Marcel, pela infinita paciência, dedicação, companheirismo e compreensão nos momentos de estresse e ansiedade, eles se tornaram mais leves com você ao meu lado.

Aos meus amigos de laboratório que levarei para toda vida: Lidyane, Cristhyane, Franciele, Aline, Vitor, Natália e Calisto, com vocês vivi momentos inesquecíveis, alguns cansativos, mas com muita alegria acima de tudo.

Ao técnico de Laboratório Sérgio Nobokuni.

À FAPESP pelo financiamento do projeto nº 2017/11474-4.

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

Muito Obrigada!

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS 15
1.0 INTRODUÇÃO 16
2.0 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 17
2.1 Cenário do Etanol 17
2.2 Biocombustíveis 18
2.3 Etanol de Segunda Geração 19
2.4 Sorgo Sacarino 21
2.5 Características Estruturais dos Materiais Lignocelulósicos 21
2.5.1 Celulose 22
2.5.2 Lignina 23
2.5.3 Hemicelulose 24
2.6 Processo Fermentativo 25
2.7 Metabolismo de Glicose e Xilose 26
2.8 Microrganismos Fermentadores de Xilose 27
2.9 Pichia kudriavzevii 28
2.10 Fatores que influenciam o Processo Fermentativo 28
2.10.1 pH 29
2.10.2 Temperatura 29
2.10.3 Nutrientes 30
3.0 MATERIAL E MÉTODOS 31
3.1 Instalação e Condução do Experimento 31
3.2 Preparo do Mosto Sintético 31
3.3 Concentração e Destoxificação do Licor Hemicelulósico 31
3.4 Determinação dos Nutrientes do Licor Hemicelulósico 32
3.5 Levedura 33
3.6 Preparo do Inóculo 33
3.7 Ensaios 34
3.7.1 Ensaio 01 – Teste de pH e Temperatura 34
3.7.2 Ensaio 02 – Fermentação do Licor Hemicelulósico 34
3.8 Processo Fermentativo 35
3.8.1 Análises Microbiológicas 35
3.9 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência – HPLC 36

3.10 Análises Estatísticas 36
4.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO 37
4.1 Viabilidade Inicial do Inóculo dos Ensaios 37
4.2 Ensaio 01 – Teste de pH e Temperatura 38
4.3 Determinação de Macro e Micronutrientes do Licor 71
4.4 Ensaio 02 – Fermentação do Licor Hemicelulósico 71
5.0 CONCLUSÃO 80
6.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 81

FERMENTAÇÃO DE MOSTO OBTIDO DA HIDRÓLISE DE SORGO SACARINO PARA PRODUÇÃO DE ETANOL POR *Pichia kudriavzevii*

RESUMO - O etanol, de primeira e segunda gerações, é considerado um combustível líquido potencialmente alternativo aos derivados de petróleo, em função da sua maior sustentabilidade econômica, ambiental e social. Entretanto para o etanol 2G ainda há gargalos técnicos que requerem a consolidação desta tecnologia, assim como a identificação de microrganismos que apresentem habilidade para desdobrar e fermentar pentoses, presentes em grandes quantidades no liquido gerado após o pré-tratamento e hidrólise dos resíduos lignocelulósicos. Neste sentido, a presente pesquisa objetivou avaliar a influência do pH e da temperatura no desempenho fermentativo da levedura *Pichia kudriavzevii,* além de comparar a fermentação em mostos sintéticos e mosto de hidrolisado hemicelulósico de sorgo sacarino. Foram realizados dois ensaios. O primeiro, a partir da combinação de três valores de pH (3,5 – 4,0 – 4,5), com três temperaturas (32ºC - 37º - 40ºC) por um período de 24 horas. O segundo ensaio foi realizado a partir dos resultados obtidos do Ensaio 1, comparando-se o desempenho da levedura em mosto sintético e mosto de hidrolisado hemicelulósico por 72 horas. Dos resultados do Ensaio 01, observou-se que sob condições de pH 3,5 à 37ºC, a estirpe apresenta maior produção de etanol (8,30 $g.L^{-1}$), assim como menor produção de glicerol (2,07 $g.L^{-1}$) e ácido acético (3,48 $g.L^{-1}$). Comparando-se os tratamentos do Ensaio 02, verificou-se que as fermentações realizadas em mosto de hidrolisado hemicelulósico supera as demais, com produção de 13,61 $g.L^{-1}$ de etanol. Estes resultados sugerem o alto potencial desta cepa de *P. kudriavzevii* na produção de etanol de segunda geração.

Palavras-chave: biocombustíveis; processo fermentativo; pH; temperatura; levedura fermentadora de pentoses.

FERMENTATION OF MUST OBTAINED FROM SWEET SORGHUM HYDROLYSIS FOR ETHANOL PRODUCTION BY Pichia kudriavzevii

ABSTRACT - First and second generation ethanol is considered a liquid fuel potentially alternative to petroleum derivatives, due to its greater economic, environmental and social sustainability. However, for 2G ethanol production there are technical issues that require the consolidation of this technology, as well as the identification of microorganisms that have the ability to unfold and ferment pentoses, present in large quantities in the liquid generated after pretreatment and hydrolysis of lignocellulosic residues. In this sense, the present research aimed to evaluate the influence of pH and temperature on the fermentation performance of the yeast Pichia kudriavzevii, in addition to comparing the fermentation in synthetic musts and hemicellulosic hydrolyzate musts of sweet sorghum . Two tests were performed. The first was performed from the combination of three pHs (3.5 - 4.0 - 4.5), with three temperatures (32 ° C - 37 ° - 40 ° C) for a period of 24 hours. The second test was performed from the results obtained from test 1, comparing yeast performance in synthetic musts and hemicellulosic hydrolyzate musts for 72 hours. From the results of Test 01, it was observed that under conditions of pH 3.5 at 37ºC, the strain presented higher ethanol production (8.30 $g.L^{-1}$), as well as lower production of glycerol (2.07 $g.L^{-1}$) and acetic acid (3.48 $g.L^{-1}$). Comparing the treatments of Test 02, it was verified that the fermentations carried out in hemicellulosic hydrolyzate must exceed the others, with production of 13.61 $g.L^{-1}$ of ethanol. These results suggest the high potential of this strain of *P. kudriavzevii* in the production of second generation ethanol.

Key words: biofuels; fermentative process; pH; temperature; pentose fermenting yeast.

LISTA DE FIGURAS

Figura 01 – Matérias-primas para a produção de etanol de primeira e segunda geração. Fonte: Elaboração Própria. 19
Figura 02- Etapas de Produção Etanol de Segunda Geração. Fonte: Adaptado de Rabello et al, 2010. 20
Figura 03 – Esquema representativo da organização e estrutura do polímero de Celulose - Imagem adaptada de OpenStax Biology. 22
Figura 04 - Estrutura da Lignina. Fonte: Xu et al., 2006 23
Figura 05 - Esquemática da interação da Hemicelulose com a lignina e a celulose. Fonte:https://grupodecelulose.wordpress.com/2017/11/25/celulose-comoponente-estrutural..... 24
Figura 06 - Estratégia metabólica de leveduras capazes de fermentar xilose. Adaptado de Embrapa Agroenergia. 27
Figura 07- Rotoevaporador de simples efeito, utilizado para concentração do Licor Hemicelulósico. Fonte: Laboratório de Tecnologia do Açúcar e do Álcool – FCAV/UNESP. 32
Figura 08 – Esquema de crescimento de massa celular e preparo do inóculo para fermentação alcóolica. Fonte: Elaboração Própria. 33
Figura 09 - Desdobramento da interação do pH com as diferentes temperaturas estudadas durante o processo fermentativo para Viabilidade Celular. Letras minúsculas comparam tempos dentro da temperatura e letras maiúsculas comparam temperaturas dentro de cada tempo. 39
Figura 10 – Análise de variância para regressão polinomial de efeitos principais e desdobramento das interações entre temperatura e tempo, para Viabilidade Celular no pH 3,5. 40
Figura 11 – Análise de variância para regressão polinomial de efeitos principais e desdobramento da interação entre temperatura e tempo, para Viabilidade Celular no pH 4,0. 41
Figura 12 – Análise de variância para regressão polinomial de efeitos principais e desdobramento da interação entre tempo e temperatura, para Viabilidade Celular no pH 4,5. 42
Figura 13 - Desdobramento da interação do pH com as diferentes temperaturas estudadas durante o processo fermentativo para Brotamento. Letras minúsculas comparam tempos dentro da temperatura e letras maiúsculas comparam temperaturas dentro de cada tempo. 43
Figura 14 – Análise de variância para regressão polinomial de efeitos principais e desdobramento da interação entre tempo e temperatura, para Brotamento no pH 3,5. 44
Figura 15 – Análise de variância para regressão polinomial de efeitos principais e desdobramento da interação entre tempo e temperatura, para Brotamento no pH 4,0. 45
Figura 16 – Análise de variância para regressão polinomial de efeitos principais e desdobramento da interação entre tempo e temperatura, para Brotamento no pH 4,5. 46
Figura 17 - Desdobramento da interação do pH com as diferentes temperaturas estudadas durante o processo fermentativo para Viabilidade dos

Brotos. Letras minúsculas comparam tempos dentro da temperatura e letras maiúsculas comparam temperaturas dentro dos tempos. 47
Figura 18 – Análise de variância para regressão polinomial de efeitos principais e desdobramento da interação entre tempo e temperatura, para Viabilidade dos Brotos no pH 3,5. 48
Figura 19 – Análise de variância para regressão polinomial de efeitos principais e desdobramento da interação entre tempo e temperatura, para Viabilidade dos Brotos no pH 4,0. 49
Figura 20 – Análise de variância para regressão polinomial de efeitos principais e desdobramento da interação entre tempo e temperatura, para Viabilidade dos Brotos no pH 4,5. 50
Figura 21 - Desdobramento da interação do pH com as diferentes temperaturas estudadas durante o processo fermentativo para Concentração de Glicose. Letras minúsculas comparam tempos dentro da temperatura e letras maiúsculas comparam temperaturas dentro dos tempos. 51
Figura 22 – Análise de variância para regressão polinomial de efeitos principais e desdobramento da interação entre temperatura e tempo, para Concentração de Glicose no pH 3,5. 52
Figura 23 – Análise de variância para regressão polinomial de efeitos principais e desdobramento da interação entre temperatura e tempo, para Concentração de Glicose no pH 4,0. 53
Figura 24 – Análise de variância para regressão polinomial de efeitos principais e desdobramento da interação entre temperatura e tempo, para Concentração de Glicose no pH 4,5. 54
Figura 25 - Desdobramento da interação do pH com as diferentes temperaturas estudadas durante o processo fermentativo para Concentração de Xilose. Letras minúsculas comparam tempos dentro da temperatura e letras maiúsculas comparam temperaturas dentro dos tempos. 55
Figura 26 – Análise de variância para regressão polinomial de efeitos principais e desdobramento da interação entre temperatura e tempo, para Concentração de Xilose no pH 3,5. 56
Figura 27 – Análise de variância para regressão polinomial de efeitos principais e desdobramento da interação entre temperatura e tempo, para Concentração de Xilose no pH 4,0. 57
Figura 28 – Análise de variância para regressão polinomial de efeitos principais e desdobramento da interação entre temperatura e tempo, para Concentração de Xilose no pH 4,5. 58
Figura 29 - Desdobramento da interação do pH com as diferentes temperaturas estudadas durante o processo fermentativo para Concentração de Etanol. Letras minúsculas comparam tempos dentro da temperatura e letras maiúsculas comparam temperaturas dentro de cada tempo. 59
Figura 30 – Análise de variância para regressão polinomial de efeitos principais e desdobramento da interação entre temperatura e tempo, para Concentração de Etanol no pH 3,5. 60
Figura 31 – Análise de variância para regressão polinomial de efeitos principais e desdobramento da interação entre temperatura e tempo, para Concentração de Etanol no pH 4,0. 61

Figura 32 – Análise de variância para regressão polinomial de efeitos principais e desdobramento da interação entre temperatura e tempo, para Concentração de Etanol no pH 4,5. 62
Figura 33 - Desdobramento da interação do pH com as diferentes temperaturas estudadas durante o processo fermentativo para Concentração de Ácido Acético. Letras minúsculas comparam tempos dentro da temperatura e letras maiúsculas comparam temperaturas dentro dos tempos. 63
Figura 34 – Análise de variância para regressão polinomial de efeitos principais e desdobramento da interação entre temperatura e tempo, para Concentração de Ácido Acético no pH 3,5. 64
Figura 35 – Análise de variância para regressão polinomial de efeitos principais e desdobramento da interação entre temperatura e tempo, para Concentração de Ácido Acético no pH 4,0. 65
Figura 36 – Análise de variância para regressão polinomial de efeitos principais e desdobramento da interação entre temperatura e tempo, para Concentração de Ácido Acético no pH 4,5. 66
Figura 37 - Desdobramento da interação do pH com as diferentes temperaturas estudadas durante o processo fermentativo para Concentração de Glicerol. Letras minúsculas comparam tempos dentro da temperatura e letras maiúsculas comparam temperaturas dentro dos tempos. 67
Figura 38 – Análise de variância para regressão polinomial de efeitos principais e desdobramento da interação entre temperatura e tempo, para Concentração de Glicerol no pH 3,5. 68
Figura 39 - Análise de variância para regressão polinomial de efeitos principais e desdobramento da interação entre temperatura e tempo, para Concentração de Glicerol no pH 4,0. 69
Figura 40 – Análise de variância para regressão polinomial de efeitos principais e desdobramento da interação entre temperatura e tempo, para Concentração de Glicerol no pH 4,5. 70
Figura 41 - Desdobramento da interação entre mostos e tempos de fermentação para viabilidade celular. Letras minúsculas comparam tempos dentro de cada mosto e letras maiúsculas comparam mostos dentro de cada tempo. 72
Figura 42 - Desdobramento da interação entre mostos e tempos de fermentação para índice de brotamento. Letras minúsculas comparam tempos dentro de cada mosto e letras maiúsculas comparam mostos dentro de cada tempo. 73
Figura 43 - Desdobramento da interação entre mostos e tempos de fermentação para viabilidade dos brotos. Letras minúsculas comparam tempos dentro de cada mosto e letras maiúsculas comparam mostos dentro de cada tempo. 74
Figura 44 - Desdobramento da interação entre mostos e tempos de fermentação para Concentração de Glicose. Letras minúsculas comparam tempos dentro de cada mosto e letras maiúsculas comparam mostos dentro de cada tempo. 75
Figura 45 - Desdobramento da interação entre mostos e tempos de fermentação para Concentração de Xilose. Letras minúsculas comparam

tempos dentro de cada mosto e letras maiúsculas comparam mostos dentro de cada tempo. 76
Figura 46 - Desdobramento da interação entre mostos e tempos de fermentação para Concentração de Arabinose. Letras minúsculas comparam tempos dentro de cada mosto e letras maiúsculas comparam mostos dentro de cada tempo. 77
Figura 47 - Desdobramento da interação entre mostos e tempos de fermentação para Concentração de Etanol. Letras minúsculas comparam tempos dentro de cada mosto e letras maiúsculas comparam mostos dentro de cada tempo. 78
Figura 48 - Desdobramento da interação entre mostos e tempos de fermentação para Concentração de Ácido Acético. Letras minúsculas comparam tempos dentro de cada mosto e letras maiúsculas comparam mostos dentro de cada tempo. 79
Figura 49 - Desdobramento da interação entre mostos e tempos de fermentação para Concentração de Glicerol. Letras minúsculas comparam tempos dentro de cada mosto e letras maiúsculas comparam mostos dentro de cada tempo. 80

LISTA DE TABELAS

Tabela 01 - Descrição das concentrações de xilose, glicose e suplementação de nutrientes nos mostos utilizados no Ensaio 02.... 35
Tabela 02 - Valores de viabilidade celular, índice de brotamentos e viabilidade dos brotos do inóculo determinados nos dois ensaios do experimento. 37
Tabela 03 - Resultado da análise de macro e micronutrientes presentes no licor hemicelulósico concentrado e destoxificado. 71

1.0 INTRODUÇÃO

O aumento da produção de biocombustíveis originados através de fontes renováveis de energias é necessário, uma vez que o plano de metas nacionais estabelecidas na COP21, em Paris, visa a substituição gradual do petróleo, e consequentemente, a redução dos gases de efeito estufa (Renovabio, 2018). Com o objetivo de reduzir a dependência dos combustíveis fósseis, vários países têm incrementado a produção de etanol em sua matriz energética, seja para adicioná-lo diretamente à gasolina, seja para a utilização em automóveis. Com este propósito, espera-se que a produção de etanol passe de 26,7 bilhões de litros produzidos atualmente para 47,1 bilhões de litros, até 2030 (CNPE, 2018).

No Brasil a cana-de-açúcar é a principal matéria-prima destinada à produção de etanol. Entretanto, apenas a utilização desta cultura não será suficiente para atender a futura demanda, requerendo a implementação de outras matérias-primas e tecnologias de produção, que estão em processo de desenvolvimento/consolidação (Masson et al., 2015).

Os biocombustíveis de segunda geração podem contribuir para o aumento da produção de etanol, pelo fato dos materiais lignocelulósicos, considerados subprodutos, estarem disponíveis em grandes quantidades na indústria sucroalcooleira. Após passarem por tratamentos físicos, químicos ou biológicos, estes materiais darão origem a um líquido rico em açúcares (pentoses e hexoses) que poderão ser utilizados pelas leveduras durante o processo fermentativo.

As leveduras fermentadoras empregadas na produção de etanol 1G, *Saccharomyces cerevisiae,* são excelentes fermentadoras de hexoses porém, pouco se sabe sobre a capacidade deste microrganismo em consumir pentoses (Ceccato-Antonini et al, 2017; Buckeridge et al., 2015). Por esta razão, objetivando viabilizar a produção de etanol de segunda geração, diversos estudos vêm sendo realizados, buscando identificar microrganismos que apresentem habilidade de fermentar pentoses. Espera-se ainda a seleção de microrganismos termotolerantes, resistentes a inibidores produzidos durante o

pré-tratamento dos resíduos lignocelulósicos e que sejam capazes de utilizar substratos, gerando grandes quantidades de etanol.

Dentre estes microrganismos, Freita (2017) destaca que a espécie *Pichia kudriavzevii* apresenta capacidade de fermentar pentoses. De modo semelhante, Isono et al. (2012) descrevem este microrganismo como robusto e tolerante a multi-stress, como tolerância a pH baixo, altas temperaturas de até 40°C.

Neste contexto, a presente pesquisa objetivou avaliar a influência do pH e da temperatura no desempenho da levedura *P. kudriavzevii*, e comparar a fermentação em mosto sintético e mosto de hidrolisado hemicelulósico de sorgo sacarino.

5.0 CONCLUSÃO

- A levedura *P. kudriavzevii*, quando submetida a pH 3,5 e temperatura de 37ºC, se manteve com células viáveis por maior tempo, produziu elevada concentração de etanol (8,30 $g.L^{-1}$) e baixos níveis de glicerol (2,07 $g.L^{-1}$) e ácido acético (3,48 $g.L^{-1}$).
- A utilização de licor hemicelulósico é uma alternativa bastante viável, pois a *P. kudriavzevii* demostrou maior produção de etanol (13,61 $g.L^{-1}$) quando comparado com os mostos sintéticos.

6.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALCOOLBRÁS. Revista Alcoolbrás. Busca pela vangarda. Edição 101. Abril, 2010.

ALVIRA, P.; TOMÁS-PEJÓ, E.; BALLESTEROS, M.; NEGRO, M.J. **Pretreatment Technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review.** Bioresource Technology, 2010, 101:4851-4861. 2010.

AMORIM, H. V. **Fermentação alcoólica**: ciência & tecnologia. Fermentec: Piracicaba, 448 p, 2005.

AMORIM, H.V. **Ethanol production in Brazil: a successful history**. Proceedings of the Sugar Processing Research Conference, 1:44–47, 2010.

ANP - Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. Disponível em: **http://www.anp.gov.br/dados-estatisticos**. Acesso em: 05/08/2018.

ARGYROPOULOS, D. S., & MENACHEM, S. B.. Lignin. In Biopolymers from renewable resources (pp. 292-322). Springer Berlin Heidelberg, 1998.

BANERJEE, G.; CAR, S.; LIU, T.; WILLIAMS, D. L.; MEZA, S. L.; WALTON, J. D.; HODGE, D. B. **Scale-up and integration of alkaline hydrogen peroxide pretreatment, enzymatic hydrolysis, and ethanolic fermentation**. Biotechnology and bioengineering, v. 109, n. 4, p. 922-931, ISSN 1097-0290, 2016.

BARBOSA, JC; MALDONADO, JUNIOR, W. 2015. **AgroEstat - sistema para análises estatísticas de ensaios agronômicos**. Jaboticabal: FCAV/UNESP. 396p. 2015.

BASSO F.C.; ANDREOTTI, M.; CARVALHO M.P.E.; LODO B.N & MONTANARI R (2011) **Correlação linear e espacial entre a produtividade e o teor de proteína bruta do guandu anão e os atributos de um Latossolo**. Revista Brasileira de Ciências Agrárias, 6:521- 530, 2011.

BASSO, L.C. **Fisiologia e ecologia da fermentação alcoólica**, I Workshop Tecnológico sobre Produção de Etanol, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – USP, 2004.

BEN – Balanço Energético Nacional. Agência internacional de energia. 2013

BEZERRA, T.L. AND RAGAUSKAS, A.J. **A review of sugarcane bagasse for second-generation bioethanol and biopower production**. Biofuels, Bioprod. Bioref. 10:634–647.2016.

BINOD, P. et al. **Hydrolysis of lignocellulosic biomass for bioethanol production.** In: PANDEY, A. et al. Biofuels, Burlington: Academic Press, p. 229-250, 2011.

BRASIL. **Anuário da Cana 2016.** Ribeirão Preto: ProCana Brasil, 2016. BRASIL. Lei 12.490-2011. Disponível em http://legislacao.anp.gov.br/?path=legislacao-federal/leis/2011&item=lei-12.490--2011.

BRUINENBERG, P.M. et al. **NADH-linked aldose reductase: the key to anaerobic alcoholic fermentation of xylose by teasts**. Applied Microbiology and Biotechnology, v.19, n.4, p.256-260, 1984.

BUCKERIDGE, M.S.; SANTOS W.D.; TINÉ, M.S.; DE SOUZA, A.P. **The cell wall architecture of sugarcane and its implications to cell wall recalcitrance**. In: Lam E, Carrer H, Silva JA (Ed) Compendium of bioenergy plants: sugarcane. 2015.

CADETE R.M.; DE LAS HERA, A.M.; SANDSTRÖM A.G.; FERREIRA C.; GÍRIO F.; GORWA-GRAUSLUND M.F.; ROSA C.A.; FONSECA C. **Biotechnology for biofuels exploring xylose metabolism in Spathaspora species: XYL1.2 from Spathaspora passalidarum as the key for eficiente anaerobic xylose fermentation in metabolic engineered Saccharomyces cerevisiae**. Biotechnology for Biofuels, 1:14, 2016.

CADETE, R. M.; MELO, M. A.; ZILLI, J. E.; VITAL, M. J.; MOURO, A.; PROMPT, A. H.; GOMES, F. C.; STAMBUK, B. U.; LACHANCE, M. A.; ROSA, C. A. **Spathaspora brasiliensis sp. nov., Spathaspora suhii sp. nov., Spathaspora roraimanensis sp. nov. and Spathaspora xylofermentans sp. nov., four novel (D)-xylose-fermenting yeast species from Brazilian Amazonian forest.** Antonie Van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology, Dordrecht, v. 103, n. 2, p. 421-431, 2013.

CADETE, R. M.; SANTOS, R. O.; MELO, M. A.; MOURO, A.; GONCALVES, D. L.; STAMBUK, B. U.; GOMES, F. C.; LACHANCE, M. A.; ROSA, C. A. **Spathaspora arborariae sp. nov., a d-xylose-fermenting yeast species isolated from rotting wood in Brazil**. FEMS Yeast Research, Malden, v. 9, n. 8, p. 1338-1342, 2009.

CARVALHO, M. Lucas de. **Estudo cinético da Hidrólise Enzimática de celulose de bagaço de cana-de-açúcar.** 2011. 103 f. Dissertação (Mestradoem Engenharia Química) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2011.

CECCATO-ANTONINI, S.R.; CODATO, C.B.; MARTINI, C.; BASTOS, R.G; TAUK-TORNISIELO, S.M. **Yeast for pentose fermentation: isolation, screening, performance, manipulation, and prospects**. CHAPTER 08 In: Buckeridge, M.S.; De Souza, A.P. (Eds.) Advances of Basic Science for Second Generation Bioethanol from Sugarcane. Springer, p.133157. 2017.

CECCATO-ANTONINI, S.R.; **Microbiologia da fermentação alcoólica A importância do monitoramento microbiológico em destilarias**. São Carlos : EdUFSCar, 2012. 105 p. -- (Coleção UAB-UFSCar). 2012.

CHANDEL, A. K.; SINGH, O. V. **Weedy lignocellulosic feedstock and microbial metabolic engineering: advancing the generation of "Biofuel"**. Applied Microbiology and Biotechnology, 2011, 89:1289-1303. 2011.

CHU, B.C.H.; H. LEE. 2007. **Genetic Improvement of Saccharomyces cerevisiae for Xylose Fermentation**. Biotechnology Advances, vol.25, n.5, pg; 425–441. 2007.

CNPE – Conselho Nacional de Política Energética, **Resolução nº5 de 05 de junho de 2018**. Disponível em: http://www.mme.gov.br/documents/10584/71068545/Resolu%C3%A7%C3%A3o+n%C2%BA+5_2018_CNPE.PDF/a46326ab-df5d-4d3f-ad52-b9f1ffc7ab1d. 2018.

CNPEM – Centro Nacional de Pesquisa em energia e Materiais. Disponível em: http://pages.cnpem.br/tecnologia-etanol/wp-/uploads/sites/66/2015/12/tassia-junqueira.pdf. 2015.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira 2018/2019**. Disponível em : file:///C:/Users/DELL/Downloads/CanaZdezembro.pdf.

CONVERSE, A. O.; WARE, W. **On the reactivity of cellulosic substrates in enzymatic hydrolysis**. In: IEA/BIOFOR WORKSHOP ON APPLICATIONS OF BIOTECHNOLOGY IN BIOENERGY SYSTEMS. 18-20 Out., 1994, Canada, 1994.

CORSINO*, M.C.* **Embrapa retoma produção de sorgo sacarino: A cultivar é uma opção na entressafra da cana-de-açúcar.** 2011. Disponível em:<http://www.cpt.com.br/noticias/embrapa-retoma-producao-de-sorgo-sacarino>. Acesso em: 10 de nov. de 2018.

DELGENES J.P.; MOLETTA R.; NAVARRO J.M. **The effect of aeration on D-xylose fermentation by Pachysolen tannophilus, Pichia stipitis, Kluyveromyces marxianus and Candida shehatae**. Biotechnology Letters, 8(12): p. 897-900, 1996.

DELLA-BIANCA, B. E.; BASSO, T. O.; STAMBUK, B. U.; BASSO, L.C.; GOMBERT, A.K. **What do we know about the yeast stains from the Brazilian fuel ethanol industry?** Appl. Microbiol. Biotechnol., 97(3):979-991, 2013.

DEMIRBAS, A. **Energy and environmental issues relating to greenhouse gas emissions in Turkey**. Energy Convers Manage, v. 44, p. 201–213, 2003.

DEN, H.O., R.; ROSE, S. H.; LYND, L. R.; van ZYL, W. H. **Hydrolysis and fermentation of amorphous cellulose by recombinant Saccharomyces cerevisiae**. Metabolic Engineering. Cambridge, v. 9, n. 1, p. 87-94. 1990.

DOHERTY, W.O.S.; MOUSAVIOUN, P.; FELLOWS, C.M. **Value-adding to cellulosic ethanol: Lignin polymers.** Industrial Crops and Products, 33:259-276. 2011.

DU PREZZ, J.C. **Process parameters and environmental factors affecting D-xylose fermentation by yeasts**. Enzyme Microbiology Technology, v. 16, p. 944-952, 1994.

ELBING, K.; LARSSON, C.; BILL, R.M.; ALBERS, E.; SNOEP, J.L; BOLES, E.; HOHMANN, S.; GUSTAFSSON, L. **Role of hexose transport in control of glycolytic flux in Saccharomyces cerevisiae.** Applied and Environmental Microbiology. v.70, n.9, pg. 5323-5330, 2004.

ELIASSON, A.; CHRISTENSSON, C.; WAHLBOM, F. **Anaerobic Xylose Fermentation by Recombinant Saccharomyces cerevisiae Carrying XYL1, XYL2, and XKS1 in Mineral Medium Chemostat Cultures**. Appl Environ Microbiol 66:3381-3386, 2000.

EMBRAPA Disponível em: https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/matprima1_000g7pcetcc02wx5ok0wtedt32e6jis7.pdf. Acesso em: 10/01/2019.

EPE – Empresa de Pesquisa Energética. Disponívelhttp://www.epe.gov.br/sites-pt/publicacoes-dados-abertos/publicacoes/PublicacoesArquivos/publicacao-40/topico-66/Cap2_Texto.pdf. 2018.

FELIPE, M.G.A. ; VITOLO, M. ; MANCILHA, I. M. ; SILVA, S. S. **Fermentation of Sugar Cane Bagasse Hemicellulosic Hydrolysate for Xylitol Production: Effect of pH.** Biomass & Bioenergy, v. 13, n.1, p. 11-14, 1997.

FENGEL, D. & WEGENER, G. Wood and cellulosic chemistry. New York, p. 189-200, 1991.

FENGEL, D., & WEGENER, G. **Wood: chemistry, ultrastructure, reactions.** Walter de Gruyter, 613, 1960-82. 1984.

FREITA, L. A. **Avaliação tecnológica e microbiológica da fermentação etanólica de caldo de sorgo sacarino.** 2013. 70f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agropecuária) Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal. 2013.

FREITA, L. A. **Produção de etanol de segunda geração utilizando bagaço de sorgo sacarino.** 2017. 185 f. Tese (Doutorado em Microbiologia Agropecuária) Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2017.

GARCIA, D. **Estudo da produção de etanol pela levedura Pichia stipitis, a partir do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de malte**. Tese de Doutorado, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Industrial, Escola de Engenharia de Lorena/USP2012.

GOVINDASWAMY S.; VANE, LM. Kinetics of growth and ethanol production on different carbon substrates using genetically engineered xylose-fermenting yeast. **Bioresource Technology,** v. 98, p. 677–68, 2007.

GUERRIERO, G., HAUSMAN, J. F., STRAUSS, J., ERTAN, H., & SIDDIQUI, K. S. (2016). **Lignocellulosic biomass: Biosynthesis, degradation, and Industrial utilization**. Engineering in Life Sciences, 16(1), 1-16.2016.

HAHN-HAGERDAL, B.; GALBE, M.; GORWA-GRAUSLUND, M.-F.; LIDÉN, G.; ZACCHI, G. **Bio-ethanol–the fuel of tomorrow from the residues of today.** Trends in biotechnology, v. 24, n. 12, p. 549-556, ISSN 0167-7799, 2006.

HAMELINCK, C. N.; HOOIJDONK, G. V.; FAAIJ, A. P. C. **Ethanol from lignocellulosic biomass: techno-economic performance in short-, middle- and long-term**. Biomass and Bioenergy, 2005, 28:384-410. 2005.

HARINDER,S.; OBEROI, N.; BABBARSIMRANJEET, K.; SANDHUSANDEEP, S.; DHALIWALUJJAL, K.; CHADHAVINOD ,K. B. **Ethanol production from alkali-treated rice straw via simultaneous saccharification and fermentation using newly isolated thermotolerant Pichia kudriavzevii HOP-1.** Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology.April 2012, Volume 39, Issue 4, pp 557–566, 2012.

HERNÁNDEZ-PÉREZ A.F.; DE ARRUDA P.V.; FELIPE, M. DAS G. DE A. **Sugarcane straw as a feedstock for xylitol production by Candida guilliermondii FTI 20037**. Brazilian J Microbiol. 2016;47(2):489-496. doi:10.1016/j.bjm.2016.01.019.2016.

HISAMATSU M, FURUBAYASHI T, KARITA S, MISHIMA T, ISONO N. **Isolation and identification of a novel yeast fermenting ethanol under acidic conditions.** J Appl Glycosci. 2006;53:111-113. 2006.

IMAI, T.; OHNO, T. **The relationship between viability and intracellular pH in the yeast Saccharomyces cerevisiae**. Applied and Environmental Microbiology, v. 61, n.10, p. 3604-3608, Oct. 1995.

INGLEDEW, W. M. **Yeasts: physiology, nutrition and ethanol production**. In:INGLEDEW, W. M.; AUSTIN, G. D.; KELSALL, D. R.; KLUHSPIES, C. (Ed.). The alcohol textbook. 5th ed. Nottinghan: Nottinghan Univ. Press, 2009.

ISONO, N.; HAYAKAWA, H.; USAMI, A.; MISHIMA, T.; HISAMATSU, M. **A comparative study of ethanol production by Issatchenkia orientalis strains under stress conditions.** J Biosci Bioeng. 2012 Jan;113(1):76-8. doi: 10.1016/j.jbiosc.2011.09.004. Epub 2011 Oct 20. 2012.

JEFFRIES, T. W.; JIN, Y. S. **Metabolic engineering for improved fermentation of pentoses by yeasts.** Applied Microbiology and Biotechnology, New York, v. 63, n. 5, p. 495-509, 2004.

JEFFRIES, T.W. **Utilization of xylose by bacteria, yeasts and fungi**. Applied and Environmental Microbiology. v. 27, pg. 1-32, 1983.

JONES JUNIOR, J.B. Kjeldahl nitrogen determination-What's in a name. **Journal of Plant Nutrition**, 10: 1675-1682. 1987.

KITAGAWA T, TOKUHIRO K, SUGIYAMA H, ET AL. **Construction of a β-glucosidase expression system using the multistress-tolerant yeast Issatchenkia orientalis**. Appl Microbiol Biotechnol. 2010;87:1841-1853. 2010.

KNAUF, M. AND MONIRUZZAMAN, M. (2004) Lignocellulosic biomass processing: A perspective. Int Sugar J 106:147-150. 2004.

KRAHULEC, S.; KRATZER, R.; LONGUS, K.; NIDETZKY, B. **Comparison of Scheffersomyces stipitis strains CBS 5773 and CBS 6054 with regard to their xylose metabolism: implications for xylose fermentation.** Microbiologyopen, Hoboken, v. 1, n. 1, p. 64-70, 2012.

KRÄSSIG, H.; SCHURZ, J.; STEADMAN, R.G.; SCHLIEFER, K.; ALBRECHT, W.;MOHRING, M.; SCHLOSSER, H. ULLMANN'S **Encyclopedia of industrial chemistry.** Weinheim: Wiley-VCH, 2004.

KUMAR, R.; SINGH, S.; SINGH, O.V. **Bioconversion of lignocellulosic biomass: biochemical and molecular perspectives**. J. Ind. Microbiol. Biotechnol., v. 35, 2007.

LAUREANO-PEREZ, L., TEYMOURI, F., ALIZADEH, H., & DALE, B. E. (2005). **Understanding factors that limit enzymatic hydrolysis of biomass.** Applied Biochemistry and Biotechnology, 124(1-3), 1081-1099. 2005.

LEE, S.S.; ROBINSON, F.M.; WONG, H.Y. **Rapid determination of yeast viability**. Biotechnology Bioengineering Symposium, n.11, 1981.

LEITE, R.C.C.; LEAL, M.R. **O biocombustível no Brasil**. Novos estud. - CEBRAP no.78 São Paulo July. 2016.

LI, H.; WU, M.; XU, L.; HOU, J.; GUO, T.; BAO, X.; SHEN, Y. **Evaluation of industrial Saccharomyces cerevisiae strains as the chassis cell for second-generation bioethanol production**. Microbial Biotechnology, Hoboken, v. 8, n. 2, p. 266-274, 2015.

LIMA, A. O. S. & RODRIGUES, A. L. **Sacarificação de resíduos celulósicos com bactérias recombinants como estratégia para redução do efeito estufa**, Revista de ciências ambientais, v. 1, n. 2, p. 5-18, 2007.

LIMA, U. A.; BASSO, L. C.; AMORIM, H. V. In: LIMA, U. A. (Coord.). **Biotecnologia Industrial: Processos Fermentativos e Enzimáticos**. São Paulo: Edgard Blücher, p.1-43. (Biotecnologia Industrial; v.3), 2001.

LIN, Y.; TANAKA, S. Ethanol fermentation from biomass resources: current state and prospects Appl Microbiol Biotechnol., v. 69, p. 627–642, 2006.

LOSORDO, Z; MASCOMA, L.L.C.; WALTHAM, M.A.; ROOYEN, K.; ENGER,K.; WILLIES, D.; FROEHLICH, A. **Cost competitive secondgeneration ethanol production from hemicellulose in a Brazilian sugarcane biorefinery.** Biofuels, Bioprod. Bioref. 10:589–602. 2016.

LYONS, T. P. **Alcohol production: a traditional process changing rapidly**. In: JACQUES, K. A.; LYONS, T. P.; KELSALL, D. R. (Ed.). The alcohol textbook. 4th ed. Nottinghan: Nottinghan University Press, 2003.

MARTIN,C.; ALMAZÁN, O.; MARCET, M.; JONSSON, L.J. **A study of three strategies for improving the fermentability of sugarcane bagasse hydrolysates for fuel ethanol production**. International Sugar Journal, v. 109, p. 1267, 2007.

MARTINS, F.A.; MARTIM, T.; CORRÊA, A.M.; OLIVEIRA, F.F. **A produção do Etanol de Segunda Geração a partir do Bagaço de cana-de-açúcar**. Revista Latino Americana de Inovação e Engenharia de Produção. Vol 2, n.3, julho de 2014.

MARTON, J. M. **Avaliação dos diferentes carvões ativados e das condições de adsorção no tratamento do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana deaçúcar para a obtenção biotecnológica de xilitol.** 105p, 2002, Dissertação de Mestrado - Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2002.

MASSON, I. S; COSTA, G. H. G; ROVIERO, J.P; FREITA, L. A; MUTTON, M. A.; MUTTON, M. J. R. Produção de etanol a partir da fermentação de caldo de sorgo sacarino e cana-de-açúcar. **Cienc. Rural**, vol.45 no 9, Santa Maria, Sept. 2015.

MATSUSHIKA, A.; SAWAYAMA, S. **Comparative study on a series of recombinant flocculent Saccharomyces cerevisiae strains with different expression levels of xylose reductase and xylulokinase**. Enzyme Microbial Technology, v. 48, n.6/7, p. 466–471, 2011.

MAURÍCIO, R.M.; PEREIRA, L.G.R.; GONÇALVES, L.C.; RODRIGUEZ, N.M.; MARTINS, R.G.R.; RODRIGUES, J.A.S. **Potencial da técnica *in vitro* semi-automática de produção de gases para avaliação de silagens de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench).** R. Bras. Zootec. v.32, n.4, 2003.

MCMILLAN, J. D.;VIAMAJALA, S.; SCHELL, D. J.; ELANDER, R. T. **Rheology of corn stover slurries at high solids concentrations–effects of saccharification and particle size**. Bioresource Technology, v. 100, n. 2, p. 925-934, ISSN 0960-8524, 1994.

MORAES, F.V, **Como controlar a qualidade da cachaça.** Engarrafador moderno, São Paulo, Vol.10, LK editora, Maio, 2001.

MORRIES, P. **A century of Kjeldahl** (1883-1983). Journal of the Association of Public Analysts, v.21, p.53-58, 1983.

MURAKAMI, L.S.; BOMBABA, G.; AFONSO, G. **Processo produtivo do etanol de segunda geração usando bagaço de cana-de-açúcar.** X Encontro de Engenharia de produção Agroindustrial. 2016.

MUSSATO, S. I.; DRAGONE, G.; GUIMARÃES, P. M. R.; SILVA, J. P. A.; CAMEIRO, L. M.; ROBERTO, I. C.; VICENTE, A.; DOMINGUES, L.; TEIXEIRA, J. A. **Technological trends, global market and challenges of bio-ethanol production**. Biotechnology Advances, v.28, p.817-830. 2010.

NAKAMURA, Y.; SAWADA, T.; INOUE, E. **Mathematical model for ethanol production from mixed sugars by Pichia stipitis.** Journal of Chemical Technology and Biotechnology, v. 76, p. 586-592, 2001.

NAKASU, P. Y. S. et al. **Acid post-hydrolysis of xylooligosaccharides from hydrothermal.** Monografia de TCC – Química – Bacharelado – UFSJ – 2016.

NEVOIGT, E., STAHL, U. **Osmoregulation and glycerol metabolism in the yeast Saccharomyces cerevisiae**. FEMS Microbiology Reviews, v. 21, p. 231-241, 1997.

NGUYEN, N. H.; SUH, S. O.; MARSHALL, C. J.; BLACKWELL, M. **Morphological and ecological similarities: wood-boring beetles associated with novel xylose-fermenting yeasts, Spathaspora passalidarum gen. sp. nov. and Candida jeffriesii sp.** nov. Mycological Research, Cambridge, v. 110, p. 1232-1241, 2006.

NUTTAPORN, C.; SUDARAT, T.;PREEKAMOL, K.; PORNTHAP, T. **The potential of the newly isolated thermotolerant yeast Pichia kudriavzevii RZ8-1 for high-**

temperature ethanol production. Braz. J. Microbiol. vol.49 no.2 São Paulo Apr./June 2018.

OBEROI H.S.; VADLANI P.V.; BRIJWANI K.; BHARGAV V.K.; PATIL, R.T. **Enhanced ethanol production via fermentation of rice straw with hydrolysate-adapted Candida tropicalis ATCC 13803**. Process Biochem 45:1299–1306.2012.

OGEDA, T. L.; PETRI, D. F. S. **Hidrólise Enzimática De Biomassa.** Química Nova, v. 33, n.7, p. 1549–1558, 2010.

OLIVA-NETO, P.; YOKOYA, F. **Evaluation of bacterial contamination in a fedbatch alcoholic fermentation process**. World Journal of Microbiology & Biotechnology, v.10, n.6, p.697-699, 2013.

PAGNOCCA F.C.; LEGASPE, M.F.C.; RODRIGUES, A.; RUIVO, C.C.C.; NAGAMOTO, N.S.; BACCI JR, M.; FORTI, L.C. **Yeasts isolated from a fungus-growing ant nest, including the description of Trichosporon chiarellii sp. nov., an anamorphic basidiomycetous yeast.** International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. v.60 p.1454–1459. 2015.

PAVANI, C.D.; ROVIERO, J.P.; FREITA, L.A.; COSTA, G.H.G.; MUTTON, M.J.R. Efeito da concentração de N, P, Mg, Mn e Zn sobre a fisiologia da levedura em fermentação. **Ciência & Tecnologia**, v.5, 2013.

QUILHÓ, F. T. L. **Produção de Etanol a partir de Materiais Lenho-celulósicos de Sorgo Sacarino:** Revisão Bibliográfica. 2011. 88 f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciência e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, Portugal, 2011.

RABELO, S. C.; MACIEL FILHO, R.; COSTA, A. C. **A comparison between lime and alkaline hydrogen peroxide pretreatments of sugarcane bagasse for ethanol production**. Applied biochemistry and biotechnology, v. 148, n. 1-3, p. 45-58, 2008. ISSN 0273- 2289, 2008.

RABELO, S. C. **Avaliação e otimização de pré-tratamentos e hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar para a produção de etanol de segunda geração.** 447f, 2010. Tese (Doutorado em Engenharia Química). Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química, Campinas, 2010.

RENOVABIO. **Política Nacional de Biocombustíveis, instituída pela Lei nº 13.576/2017.** Disponível em: http://www.anp.gov.br/biocombustiveis/renovabio. 2018.

RIBEIRO. F.A.M. **Fermentação Alcoólica. ModuloII, Processamento na industria sucroalcooleira**. Apostila. Uberaba:FAZU. 2010.

RFA - Renewable Fuels association. Disponível em: https://ethanolrfa.org/wp-content/uploads/2018/10/Final-SAFE-ProposedRule-Comment-Letter.pdf. Acesso em: 19 de dezembro de 2018.

ROSSEL, C. Curso Biocombustiveis Líquidos**. Obtenção de Etanol pela hidrólise de Materiais Ligno-celulósicos**. AGRENER-GD 2006 Junho/2006 – Campinas-SP. Disponível em: https://www.feagri.unicamp.br/energia/agrener2006b/jdowloads/.../carlosRossel.ppt . Acesso em: 01/02/2019.

SAAKE, B., & LEHNEN, R. **Lignin**. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry. 2007.

SANTOS, T.N.; **Avaliação da biomassa de sorgo sacarino e palma forrageira para produção de etanol em Pernambuco.** 2012. 95 p. Dissertação. Universidade Federal de Pernambuco, 2012.

SARKAR, N., GHOSH, S. K., BANNERJEE, S., AND AIKAT, K.. **Bioethanol production from agricultural wastes: An overview.** Renewable Energy 37(1), 19-27. 2012.

SCHIRMER-MICHEL, A. C.; FLÔRES, S. H,; HERTZ, F.; MATOS, G. S.; AYUB, M. A. **Production of ethanol from soybean hull hydrolysate by osmotolerant Candida guilliermondii NRRL Y-2075.** Bioresource Technology, v. 99, p. 2898–2904, 2008.

SERRA, D.; RUFINO, A.T.; MENDES, A.F.; ALMEIDA, L.M.; DINIS, T.C.P. **Resveratrol Modulates Cytokine-Induced JAK / STAT Activation More Efficiently than 5-Aminosalicylic Acid : An In Vitro Approach**. Plos one, v. 9, n. 10, 2014.

SLININGER, P.J.; BOTHAST, R.J. **Optimum pH and Temperature Conditions for Xylose Fermentation by Pichia stipitis**. Biotechnology and Bioengineering, v. 35, p.727-731, 1990.

SLININGER, P.J., DIEN, B.S., GORSICK, S.W., LIU, Z.L. **Nitrogen source and mineral optimization enhances D-xylose conversion to ethanol by the yeast Pichia stipitis NRRL Y- 7124.** Appl Microbial Cell Physiol 72(6):1285–1296. 2006.

STAMBUK, B. U., GOMES, C. O., LACHANCE, M., ROSA, C. A. Spathaspora arborariae sp. Nov., a **D-xylose-fermenting yeast species isolated from rotting wood in Brazil**. FEAMS Yeast Res. 9: 1338-1342. 2009.

SUN, F. H.; LI, J.; YUAN, Y. X.; YAN, Z. Y.; LIU, X. F. **Effect of biological pretreatment with Trametes hirsute yj9 on enzymatic hydrolysis of corn stover.** International Biodeterioration and Biodegradation, 65:931-938, 2011.

TOIVARI, M. H.; SALUSJÄRVI, L.; RUOHONEN, L.; PENTTILA, M. **Endogenous xylose pathway in Saccharomyces cerevisiae**. Applied and Environmental Microbiology, Washington, v.70, p. 3681–3686, 2004.

TSIGIE, Y.A.; WANG, C.Y.; TRUONG, C.T.; JU, Y.H. **Lipid production from Yarrowia lipolytica Po1g grown in sugarcane bagasse hydrolysate**. Bioresource Technology, 102:9216-9222, 2011.

VENTURA, R. **Desenvolvimento de técnicas e avaliações de antimicrobianos visando a produção de etanol carburante**. Tese apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista - UNESP, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Biotecnologia. 2015.

VOGEL, A.I. **Análise Química Quantitativa**. Tradução: Horácio Macedo. 5 ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan S.A., 712 p., 1992.

WALKER, G.M. **Yeast Physiology and Biotechnology.** John Wiley and Sons Publishers. London, UK. 250P. 2008.

WHITE, J.S.; YOHANNAN, B.K.; WALKER, G.M. **Bioconversion of brewer's spent grains to bioetanol**. FEMS Yeast Research, v. 8, p. 1175-1184, 2008.

WINKELHAUSEN, E.; KUZMANOVA, S. **Microbial conversion of -xylose to xylitol**. Journal of Fermentation and Bioengineering, v. 86, n. 1, p. 1-14, 1998.

WOHLBACH, D. J. et al. **Comparative genomics of xylose-fermenting fungi for enhanced biofuel production**. Proceedings of the National Academy of Sciences v. 108, n. 32 p. 1-6, 2011.

WOOD, T. M.; SADDLER, J. N. **Increasing the availability of cellulose in biomass materials**. Methods Enzymol. v. 160, p. 3-11, 1988.

XU, F. **Structure, ultrastructure, and chemical composition**. Sun RC, Cereal straw as a resource of sustainable biomaterials and biofuels: chemistry, extractives, lignins, hemicelluloses and cellulose, 9-47, 2006.

YAMASHITA, Y.; KUROSUMI, A.; SASAKI, C.; NAKAMURA Y. **Ethanol production from paper sludge by immobilized Zymomonas mobilis**. Biochemical Engineering Journal, v. 42, p. 314–319, 2008.

YUANGSAARD N, YONGMANITCHAI W, YAMADA M, LIMTONG S. **Selection and characterization of a newly isolated thermotolerant Pichia kudriavzevii strain for ethanol production at high temperature from cassava starch hydrolysate.** Anton van Leeuw. 2013;103:577-588. 2013.

ZYL, C.A.; PRIOR, B.A.; DU PREEZ, J.C. **Acetic acid inhibition of D-xylose fermentation by Pichia stipitis.** Enzyme Microb. Technol., v. 13, p. 82-86, 1991.