

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 17/05/2021.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**EMPREGO DA *Moringa oleífera* LAM PARA
DESTOXIFICAÇÃO DO LICOR HEMICELULÓSTICO DE
SORGO E CANA-ENERGIA PARA PRODUÇÃO DE ETANOL
DE SEGUNDA GERAÇÃO**

Cristhyane Millena de Freitas

Tecnóloga em Biocombustíveis

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**EMPREGO DA *Moringa oleífera* LAM PARA
DESTOXIFICAÇÃO DO LICOR HEMICELULÓSTICO DE
SORGO E CANA-ENERGIA PARA PRODUÇÃO DE ETANOL
DE SEGUNDA GERAÇÃO**

Cristhyane Millena de Freitas

Orientadora: Profa. Dra. Márcia Justino Rossini Mutton

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Microbiologia Agropecuária.

2020

F866e Freitas, Cristhyane Millena
Emprego da *Moringa oleífera* LAM para destoxificação do licor hemicelulósico de sorgo e cana-energia para produção de etanol de segunda geração /
Cristhyane Millena de Freitas — Jaboticabal, 2020
120 p. : il., tabs, fotos

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal
Orientadora: Márcia Justino Rossini Mutton

1. Hidrolisado. 2. Licor hemicelulósico. 3. Hidrólise ácida. 4. *Moringa oleífera* LAM. 5. *Pichia kudriavzevii*. I. Produção de etanol de segunda geração com tratamento do licor e misturas de sorgo biomassa e cana-energia.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pela autora.

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: EMPREGO DA *Moringa oleifera* LAM PARA DESTOXIFICAÇÃO DO LICOR HEMICELULÓSICO DE SORGO E CANA-ENERGIA PARA PRODUÇÃO DE ETANOL DE SEGUNDA GERAÇÃO

AUTORA: CRISTHYANE MILLENA DE FREITAS

ORIENTADORA: MÁRCIA JUSTINO ROSSINI MUTTON

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

Profa. Dra. MÁRCIA JUSTINO ROSSINI MUTTON (Participação Virtual)
Departamento de Tecnologia / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Profa. Dra. MARIA DAS GRAÇAS DE ALMEIDA FELIPE (Participação Virtual)
Departamento de Biotecnologia-EEL/USP / Lorena/SP

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

Profa. Dra. JULIANA PELEGRINI ROVERO (Participação Virtual)
ETEC / Guariba/SP

Prof. Dr. JOSÉ ANTONIO BRESSIANI (Participação Virtual)
CanaVitalis - Melhoramento / Campinas/SP

Jaboticabal, 17 de novembro de 2020



DADOS CURRICULARES DA AUTORA

Cristhyane Millena de Freitas – Nasceu aos 22 de agosto de 1982, no município de Taquaritinga, estado de São Paulo. Em fevereiro de 2012 ingressou no curso de Tecnologia em Biocombustíveis na Faculdade de Tecnologia, Fatec Nilo De Stéfani, Jaboticabal, recebendo o título de Tecnóloga em Biocombustíveis em dezembro de 2014. Em fevereiro de 2015 ingressou no Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agropecuária, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - FCAV/Unesp, Câmpus de Jaboticabal/SP, recebendo o título de Mestre em Microbiologia Agropecuária em fevereiro de 2017. Em março de 2017 ingressou na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - FCAV/Unesp, Câmpus de Jaboticabal/SP, no Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agropecuária em nível de Doutorado Acadêmico que será concluído em novembro de 2020.

Epígrafe

...”. Mesmo quando tudo parece desabar, cabe a mim decidir entre rir ou chorar, ir ou ficar, a desistir ou lutar; porque descobri, no caminho incerto da vida, que o mais importante é decidir...”

- Cora Coralina

**Ao meu companheiro Maicon, por
toda compreensão e apoio em minhas
ausências.**

**A meus pais, pelos conselhos,
compreensão e amor incondicional.**

**A minha irmã pela por todo amor,
carinho e parceria em nossos dias.**

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida, por ter-me iluminado e guiado na minha trajetória;

Agradeço imensamente a Profa. Dra. Márcia R.J. Mutton e Prof. Dr. Miguel Angelo Mutton, pela oportunidade, pela confiança, principalmente por me darem condições de uma nova caminhada, incentivando e me mostrando que seria capaz de trilhar este caminho, sempre com ensinamentos esclarecedores, vocês realmente fazem valer a profissão honrosa de professores, e se hoje tenho este título é pelo incentivo e aprendizagem com vocês.

À Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho” – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Campus de Jaboticabal pela oportunidade de crescimento como ser humano e profissional.

Ao Programa de Microbiologia Agropecuária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal (FCAV/UNESP) pela oportunidade de realizar o curso de Pós-graduação em microbiologia agropecuária em nível de doutorado.

A Escola de Engenharia de Lorena - EEL/USP, pela parceria e desenvolvimento do processo.

À Profa. Dra. Maria das Graças de Almeida Felipe e sua equipe, nas pessoas do Andrés, Sara e Fanny que colaboraram para a realização de análises deste experimento.

Ao Prof. Dr. Michel Brienzo e sua equipe pela colaboração da realização de algumas análises deste projeto.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de S. Paulo – FAPESP, pelo apoio financeiro.

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

A minha querida irmã e companheira Lidyane, pela paciência, amor, carinho e ensinamentos, sem você em minha vida jamais chegaria até aqui.

Aos meus pais 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 companheiro Maicon, pela infinita paciência, amor e acima de tudo compreensão pela ausência ao longo dos dias, você realmente faz sentido ao significado da palavra companheiro.

Aos meus amigos de laboratório que levarei para toda vida: Lidyane, Gustavo, Natália, Franciele, Letícia, Aline, Vitor, Juliana com vocês aprendi demais e também vivi momentos inesquecíveis, alguns cansativos, mas sempre com muita alegria.

Aos amigos de Laboratório que convivi pouco tempo, mas que também foram importantes: Osania, Nayara Montijo, Rita, Marcel, Matheus Irene, Silvia, Marcelo, Jorge, Guilherme, João Francisco e João.

Ao técnico de Laboratório Sérgio Nobokuni.

Muito obrigada!

SUMÁRIO

SUMÁRIO.....	i
LISTA DE FIGURAS	vi
LISTA DE TABELAS	x
1.0 INTRODUÇÃO	1
2.0 OBJETIVOS	3
2.1 OBJETIVO GERAL	3
3.0 REVISÃO DE LITERATURA	4
3.1 Cenário do Setor Sucroenergético e dos Biocombustíveis.....	4
3.2 Classificação dos Biocombustíveis	5
3.3 Novas matérias-primas.....	8
3.3.1 Cana-energia.....	9
3.3.2 Sorgo biomassa.....	11
3.3.3 Novas matérias-primas e a colaboração da entressafra da cana.....	13
3.4 Composição química de biomassa lignocelulósica.....	15
3.4.1 Celulose.....	17
3.4.2 Hemicelulose	19
3.4.3 Lignina	21
3.4.4 Extrativos e Cinzas	23
3.5 Etanol de Segunda Geração.....	25

3.6 Etapas do processo de etanol de segunda geração.....	26
3.7 Pré-tratamentos aplicados nas biomassas lignocelulósicas.....	27
3.8 Pré-tratamento Ácido Diluído.....	35
3.9 Destoxificação do licor lignocelulósico.....	36
3.10 Método de Destoxificação Sustentável.....	41
3.11 Biofloculante de <i>M. oleífera</i> Lam.....	42
3.12 Processo Fermentativo Lignocelulósico.....	44
3.13 Levedura <i>P. kudriavzevii</i>	46
3.14 Os desafios do Etanol Lignocelulósico.....	48
4.0 MATERIAL E MÉTODOS.....	51
4.1 Instalação e condução do experimento.....	51
4.2 Delineamento Experimental.....	52
4.3 Característica da Biomassa.....	52
4.4 Obtenção e Caracterização dos Bagaços.....	53
4.5 Obtenção dos Licores.....	55
4.6 Quantificação de Açúcares e Concentração Licor Hemicelulósico.....	57
4.7 Tratamento do Licor – Destoxificação.....	57
4.8 Levedura.....	58
4.9 Preparo do Inóculo.....	58
4.10 Processo Fermentativo.....	59
4.11 Análises Microbiológicas	61

4.12 Delineamento Experimental (Processo Fermentativo)	62
4.13 Produção de Etanol.....	63
4.14 Análise dos resultados	63
5.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	64
5.1 Caracterização dos Bagaços Cana-Energia e Sorgo biomassa.....	64
5.2 Determinação dos açúcares no licor hemicelulósico	66
5.3 Destoxificação do Licor	68
5.4 Processo Fermentativo – Viabilidade Celular	73
5.5 Produção de Etanol.....	85
5.6 Nutrientes	89
6.0 CONCLUSÕES	93
7.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	94

EMPREGO DA *Moringa oleífera* LAM PARA DESTOXIFICAÇÃO DO LICOR HEMICELULÓSTICO DE SORGO E CANA-ENERGIA PARA PRODUÇÃO DE ETANOL DE SEGUNDA GERAÇÃO

RESUMO – Para que se tenha o aproveitamento das frações lignocelulósicas de biomassas residuais, é necessário disponibilizar os açúcares congênitos, porém o rompimento das células vegetais, geram também constituintes prejudiciais para os microrganismos nos processos fermentativos, logo uma etapa de destoxificação é necessária. Comumente emprega-se o método do carvão ativado, mas este gera residuais no meio e alternativas devem ser propostas. Neste contexto, objetivou-se avaliar diferentes métodos de destoxificação de licores hemicelulósicos em duas matérias-primas fibrosas, sorgo biomassa e cana-energia, através da hidrólise ácida diluída. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com mistura gradativa de sorgo biomassa e cana-energia (SB: CE), nas proporções de 25:75%; 50:50%; 75:25% e de 100 (CE) %, 100%(SB) como tratamento principal. O tratamento secundário foi a destoxificação dos licores com o tratamento convencional (carvão ativado), biofloculante de *M. oleífera* LAM e a não destoxificação. Avaliou-se a caracterização da celulose, hemicelulose, lignina, os teores de compostos fenólicos totais (mg. L⁻¹), acidez total (g.L⁻¹ de H₂SO₄), viabilidade celular, brotos e brotamento no processo fermentativo, glicerol (%), teor alcoólico (%) e nutrientes. A utilização da *M. oleífera* LAM como biofloculante no processo de destoxificação dos licores para produção de etanol de segunda geração reduziu significativamente compostos inibitórios como fenóis e ácidos totais, ocasionando assim, viabilidades celulares importantes para promover o reciclo de células. A levedura *Pichia kudriavzevii* LJ3, utilizada neste experimento demonstrou desempenho fermentativo superior, em meios tratados com moringa, tanto para o sorgo biomassa, quanto para cana-energia. O tratamento da biomassa constituído unicamente de sorgo demonstrou maiores teores alcoólicos, especialmente quando se associou com o método com *M. oleífera* LAM. Contudo tem-se que a metodologia de destoxificação da *M. oleífera* LAM foi eficiente devido ao reflexo exercido no processo.

Palavras-Chave: Hidrolisado, Bagaço de cana, biomassas celulósicas, Pentose, *Pichia kudriavzevii*.

EMPLOYMENT OF *Moringa oleifera* LAM FOR DESTOXIFYING HEMICELLULOSTIC LIQUOR FROM SORGHUM AND CANE-ENERGY FOR SECOND GENERATION ETHANOL PRODUCTION

ABSTRACT - In order to take advantage of the lignocellulosic fractions of residual biomass, it is necessary to make available the congenital sugars, but the disruption of plant cells also generates harmful constituents for microorganisms in fermentation processes, so a detoxification step is necessary. The activated carbon method is commonly used, but it generates residuals in the environment and alternatives must be proposed. In this context, the objective was to evaluate different methods of detoxification of hemicellulosic liquors in two fibrous raw materials, sorghum biomass and energy cane, through diluted acid hydrolysis. The experimental design used was completely randomized, with a gradual misturasof biomass sorghum and energy cane (SB: CE), in the proportions of 25: 75%; 50: 50%; 75: 25% and 100 (EC)%, 100% (SB) as the main treatment. The secondary treatment was the detoxification of the liqueurs with the conventional treatment (activated carbon), biofloculant from *Moringa oleifera* LAM and the non-use of the detoxification. The characterization of cellulose, hemicellulose, lignin, the contents of total phenolic compounds (mg. L⁻¹), total acidity (H₂SO₄ gL⁻¹), cell viability, shoot viability and budding in the fermentation process, glycerol (%), alcohol content (%) and nutrients. The use of *Moringa oleifera* LAM as a biofloculant in the detoxification process of liquors for the production of second generation ethanol significantly reduced inhibitory compounds such as phenols and total acids, thus causing important cellular viability to promote cell recycling. The yeast *P. kudriavzevii* LJ3, used in this experiment demonstrated superior fermentative performance, in medium treated with moringa, both for biomass sorghum and for energy cane. The treatment of biomass consisting solely of sorghum showed higher alcoholic levels, in conjunction with the method with oil Moringa LAM. However, it has been found that the detoxification methodology with oil Moringa LAM was efficient due to the reflex exerted in the process.

Keywords: Hydrolyzate, sugarcane bagasse, cellulosic biomass, Pentose, *Pichia kudriavzevii*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Uso energético no setor de transportes por combustível e ano e emissões totais de CO ₂ para Limitar o aumento médio da temperatura global 2°C. Fonte: Fulton et.al, 2015.....	4
Figura 2	Esquema contendo as diferentes etapas para a Produção de etanol 1G e 2G.....	7
Figura 3	Novas Biomassas com potencial lignocelulósico para produção de etanol de segunda geração - Cana-energia e Sorgo biomassa	9
Figura 4	Comparação do diâmetro em relação a produtividade da cana-energia versus a cana convencional.	10
Figura 5	Cultivo de Sorgo biomassa - Cultivar Palo Alto, localizado na área experimental da produção vegetal da FCAV/UNESP – Jaboticabal, safra 2018/2019.....	11
Figura 6	Cenário atual da produção de cana-de-açúcar no formato de planejamento industrial, referente aos meses de plantio e colheita da matéria-prima.	14
Figura 7	Proposta de cenário da produção de cana-de-açúcar no formato de planejamento industrial, referente aos meses de plantio e colheita com a introdução de Sorgo biomassa e Cana-energia.	14
Figura 8	Processo de Extração do Caldo de cana-de-açúcar através de moendas.....	16
Figura 9	Composição do bagaço de cana-de-açúcar com os constituintes da Estrutura Lignocelulósica: celulose, hemicelulose e lignina.	17
Figura 10	Estrutura da Composição da Celulose.	18
Figura 11	Representação estrutural das paredes celulares dos vegetais por interações entre os polissacarídeos de celulose.	19
Figura 12	Arranjo estrutural da conformidade da Composição da Hemicelulose.	20
Figura 13	Arranjo estrutural da conformidade da Composição da Lignina	21
Figura 14	Arranjo estrutural da conformidade entre Lignina , celulose e hemicelulose	22

Figura 15 Composição do Material Lignocelulósico: Extrativos, cinzas e substâncias macromoleculares	24
Figura 16 Fluxograma comparativo da Produção de etanol 1G e 2G, demonstrando as etapas diferenciadas dos processos.....	25
Figura 17 Fluxograma demonstrativo das principais etapas para obtenção do etanol 2G.	27
Figura 18 Ilustração do desarranjo provocado pelo processo de pré-tratamento em materiais lignocelulósicos.	28
Figura 19 Esquema ilustrativo das diferentes formas de condução do processo de pré-tratamento na produção de etanol lignocelulósico	29
Figura 20 Pré-tratamento de Biomassa lignocelulósica e os possíveis carboidratos e inibidores formados da degradação por ácido diluído...38	
Figura 21 Método de Destoxificação por diferença de pH e carvão ativado (Marton, 2006).	39
Figura 22 Processo de Destoxificação convencional do licor hemicelulósico e Processo sustentável com <i>M. oleífera</i> Lam.....	42
Figura 23 Característica da Árvore de <i>M. oleífera</i> Lam.	43
Figura 24 Colheita, Extração e Desfibramento do bagaço de Cana-Energia e Sorgo biomassa.....	53
Figura 25 Secagem dos bagaços de cana-energia e sorgo biomassa.	54
Figura 26 Condição experimental da cana-energia e do sorgo biomassa isolados e misturados para a entrada no biorreator de pré-tratamento. para disponibilização dos açúcares contidos nos bagaços.	55
Figura 27 Ativação e Crescimento da levedura <i>P. kudriavzevii</i>	59
Figura 28 Processo Fermentativo com a quantificação da viabilidade celular.....	60
Figura 29 Resultado da Interação de Compostos Fenólicos para os Misturados Genótipos (Cana-energia (100%), Sorgo biomassa (100%), CE (50%) + SB (50%), CE (25%) + SB (75%), CE (75%) + SB (25%).	70
Figura 30 Resultado da Interação de Acidez Total para os Misturados Genótipos (Cana-energia (100%), Sorgo biomassa (100%), CE (50%) + SB (50%), CE (25%) + SB (75%), CE (75%) + SB (25%).	72

Figura 31 Resultado da Interação de Viabilidade Celular para as Misturas dos Genótipos (Cana-energia (100%), Sorgo biomassa (100%), CE (50%) + SB (50%), CE (25%) + SB (75%), CE (75%) + SB (25%)).	75
Figura 32 Resultado da Interação de Viabilidade Celular para as Misturas dos Genótipos (Cana-energia (100%), Sorgo biomassa (100%), CE (50%) + SB (50%), CE (25%) + SB (75%), CE (75%) + SB (25%)).	77
Figura 33 Resultado da Interação de Viabilidade Celular para as Misturas dos Genótipos (Cana-energia (100%), Sorgo biomassa (100%), CE (50%) + SB (50%), CE (25%) + SB (75%), CE (75%) + SB (25%)).	78
Figura 34 Resultado da Interação do Brotamento para as Misturas dos Genótipos (Cana-energia (100%), Sorgo biomassa (100%), CE (50%) + SB (50%), CE (25%) + SB (75%), CE (75%) + SB (25%)).	79
Figura 35 Resultado da Interação do Brotamento para as Misturas dos Genótipos (Cana-energia (100%), Sorgo biomassa (100%), CE (50%) + SB (50%), CE (25%) + SB (75%), CE (75%) + SB (25%)).	80
Figura 36 Resultado da Interação do Brotamento para as Misturas dos Genótipos (Cana-energia (100%), Sorgo biomassa (100%), CE (50%) + SB (50%), CE (25%) + SB (75%), CE (75%) + SB (25%)).	82
Figura 37 Resultado da Interação da Viabilidade dos Brotos para as Misturas dos Genótipos (Cana-energia (100%), Sorgo biomassa (100%), CE (50%) + SB (50%), CE (25%) + SB (75%), CE (75%) + SB (25%)).	82
Figura 38 Resultado da Interação da Viabilidade dos Brotos para as Misturas dos Genótipos (Cana-energia (100%), Sorgo biomassa (100%), CE (50%) + SB (50%), CE (25%) + SB (75%), CE (75%) + SB (25%)).	83
Figura 39 Resultado da Interação da Viabilidade dos Brotos para as Misturas dos Genótipos (Cana-energia (100%), Sorgo biomassa (100%), CE (50%) + SB (50%), CE (25%) + SB (75%), CE (75%) + SB (25%)).	84
Figura 40 Valores médios observados e resultados da análise de variância e teste de Tukey para o Glicerol do processo fermentativo dos Tratamento dos licores (sem destoxificação, destoxificado e tratado com <i>M. oleífera</i> LAM).	87

Figura 41 - Valores médios observados e resultados da análise de variância e teste de Tukey para o teor alcoólico na Interação das Misturas dos Genótipos (Cana-energia (100%), Sorgo biomassa (100%), CE (50%) + SB (50%), CE (25%) + SB (75%), CE (75%) + SB (25%) com o tratamento dos licores (Sem destoxificação, Destoxificado e Tratado com *M. oleífera* LAM).88

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Classificação dos biocombustíveis, fonte primária de produção, vantagem e desafio mais relevantes.	6
Tabela 02	Dados médios da composição química dos bagaços in natura de Cana-energia (100%), Sorgo biomassa (100%), Cana-energia (50%) + Sorgo biomassa (50%), Cana-energia (25%) + Sorgo biomassa (75%) e Cana-energia (75%) + Sorgo biomassa (25%).	64
Tabela 3	Resultados da composição média dos licores obtido após o pré-tratamento com ácido diluído em duas condições, com relação a glicose e xilose.	67
Tabela 4	Valores médios obtidos para Acidez total e Fenol dos licores nos genótipos cana-energia e sorgo biomassa e as misturas.....	68
Tabela 5	Dados estatísticos das análises de Viabilidade do Processo, Brotamento das Células e Viabilidade dos Brotos.	73
Tabela 6	Dados estatísticos para os componentes de glicerol e teor alcoólico, para os tratamentos em que se utilizou as matérias-primas isoladas e misturadas e diferentes métodos de destoxificação.	86
Tabela 7	Quantificação dos teores de nutrientes nas matérias-primas sorgo biomassa e cana-energia, nas condições de bagaço in natura e no licor hemicelulósico.	90

1. INTRODUÇÃO

A demanda ambiental de sustentabilidade, é cada vez mais intensificada pela mitigação, de alvos poluidores, para que haja uma condição melhor para as próximas gerações. Os gases de efeito estufa, em destaque o excesso de dióxido de carbono, são grandes colaboradores para este descontrole ambiental.

O controle desta situação é uma das principais medidas implantadas por diversos países, no Brasil, o compromisso de redução foi de 47% nos próximos cinco anos (RENOVABIO, 2019). Um dos setores de grande colaboração para tal feito, é o sucroalcooleiro, pela relação de substituição gradual de combustíveis fósseis pelos biocombustíveis.

No entanto, as usinas, produzem quantidades limitadas de biocombustíveis, devido a disponibilidade de matéria-prima cultivada e estabelecida. Para que ocorra o aumento de produção em litros de etanol, é necessário o aumento de áreas cultivadas ou ainda a adoção de novas matérias-primas em complementação a cana-de-açúcar.

Neste caso, a utilização de tecnologias que favoreçam o aumento de produtividade, aproveitando o mesmo ciclo produtivo, ou ainda o emprego de resíduos gerados como o bagaço de cana, possibilitam ao Brasil alcançar a meta proposta.

O bioetanol obtido por este processo de aproveitamento do bagaço é conhecido por etanol de segunda geração (2G), e ocorre através do rompimento das células da biomassa, disponibilizando os açúcares em um líquido denominado licor hemicelulósico, ao qual será fermentado e convertido no biocombustível, etanol. Porém, para que tal condição incida, alguns compostos como fenóis e ácidos também são liberados, resultando em material com impurezas, impróprias para o processo fermentativo.

Para tanto a remoção desta impureza possibilita a transformação do etanol pelos microrganismos, sendo denominada como detoxificação, ou destoxificação do licor.

Na literatura há algumas propostas para o tratamento deste licor, cada uma possuindo um grau de eficiência, entretanto nenhum método foi totalmente consolidado. O procedimento de destoxificação mais utilizado é o método de carvão ativado, ou método convencional que gera grande quantidade de produtos químicos, como óxido de cálcio, ácido fosfórico e carvão ativado, encarecendo o processo de destoxificação pela grande quantidade utilizada.

Outras possíveis formas de promover essa purificação, pode ser dar através da utilização de auxiliares de sedimentação das impurezas, podendo estes ser polímeros químicos e/ou biofloculante naturais, como o de *M. oleífera* LAM.

O extrato de semente de Moringa possui propriedades coagulantes, que remove as impurezas através de proteínas que realizam o arraste, sedimentando parte dos compostos indesejados. Além, do que se tem um produto proveniente de biomassa vegetal, com consequências menores ao ambiente em relação aos compostos químicos.

Contudo incidir esta nova metodologia no processo de destoxificação hemicelulósico, analisando sua adaptação e produtividade pela levedura fermentadora em biomassas fibrosas, é imprescindível.

6.0 CONCLUSÕES

A utilização da nova metodologia de destoxificação do licor hemicelulósico pelo emprego do biofloculante de semente de *M. oleífera* Lam comparado ao método convencional (carvão ativado) apresentou maior eficiência para remoção de compostos fenólicos e ácidos totais.

O processo fermentativo utilizando a estirpe de levedura *P. kudriavzevii* LJ3 com a destoxificação do licor através do método do biofloculante de moringa manteve a viabilidade celular, brotamento e viabilidade dos brotos, com porcentagens satisfatórias para uma melhor obtenção de etanol de segunda geração, permitindo o reaproveitamento das células para outros ciclos fermentativos.

Para os tratamentos estudados de genótipos, o sorgo biomassa isolado e a cana-energia responderam positivamente para o tratamento com *M. oleífera* Lam, resultando em maiores teores alcoólicos.

Agradecimento

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

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT NBR 16550:2016 Emenda 1:2018 Disponível em: <https://www.abntcatalogo.com.br/norma.aspx?ID=362093>. Acesso em 29/01/2020.

AGBOR, V. B., CICEK, N., SPARLING, R., BERLIN, A., LEVIN, D. B., 2011. "Biomass pretreatment: fundamentals toward application". *Biotechnology Advances*, v.29, pp. 675-685.

ALFENORE, S.; CAMELEYRE, X.; BENBADIS, L.; BIDEAUX, C.; URIBELARREA, J. L.; GOMA, G.; MOLINA-JOUE, C.; GUILLOUET, S. E. Aeration strategy: a need for very high ethanol performance in *Saccharomyces cerevisiae* fed-batch process. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 63, p. 537-542, 2016.

ALONSO, D. M.; WETTSTEIN, G.; DUMESIC, J. A. BIMETALLIC Catalysts for Upgrading of Biomass to Fuels and Chemicals. *Chem Soc Rev.* 2012, 41, 8075-8098.

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*, v. 101, p. 4851-4861, 2010.

ALVES, L.A.; FELIPE, M.G.A.; ALMEIDA, J.B.; SILVA, S.S.; PRATA, A.M.R. Pretreatment of sugarcane bagasse hemicellulose hydrolysate for xylitol production by *Candida guilliermondii*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v. 70-72, 1998.

AMORE, A.; CIESIELSKI, P. N.; LIN, C. Y.; SALVACHÚA, D.; NOGUÉ, V. S. Development of lignocellulosic biorefinery technologies: recent advances and current challenges. *Australian Journal of Chemistry*, v. 69, p. 1201-1218, 2016.

AMORIM, H. V.; BASSO, L. C; ALVES, D. M.G. Processo de Produção de Álcool controle e monitoramento. FERMENTEC/FEALQIESALQ-USP. Piracicaba,1985.

AMORIM, H. V. Fermentação alcoólica: ciência ; tecnologia. Fermentec: Piracicaba, 448 p, 2006.

ANDRIETTA, S.R.; MIGLIARI, P.C.; ANDRIETTA, M.G.S. Classificação das cepas de leveduras de processos industriais de fermentação alcoólica utilizando capacidade fermentativa. *Stab: Açúcar, Álcool e Subprodutos*, Piracicaba, v.17, nº5, p.54-59, 2004.

ANP – Agência Nacional de Petróleo. Definições de Biocombustíveis. 2018. Disponível em: <http://www.anp.gov.br/biocombustiveis>. Acesso em 18 março de 2020.

ARANTES, V.; SADDLER, J. N. (2010). Access to cellulose limits the efficiency of enzymatic hydrolysis: the role of amorphogenesis. *Biotechnology for biofuels*, 3(1), 1.

BALAT, M., BALAT, H., OZ, C. 2008. "Progress in Bioethanol Processing", *Progress in Energy and Combustion Science*, v. 34, pp. 551-573.

AWAD, M.; WANG, H.; LI, F. Preliminary study on combined use of *M. oleífera* LAM seeds extract and PAC for water treatment. Research Journal of Recent Sciences, 2 (8), 52-55, 2013.

BANERJEE, D. KHANDELWAL, N.K.; SANGHAR, N.; PRASAD, R. Enhanced saccharification efficiency of lignocellulosic biomass of mustard stalk and straw by salt pretreatment. Industrial Crops and Products, v. 80, p. 42–49, 2016.

BARBOSA, J. C.; MALDONADO JÚNIOR, W. Sistema para Análises Estatísticas de Ensaios Agronômicos - AgroEstat, versão 1.1, 2015.

BATISTA, V. A. P., Avaliação bioenergética de sorgos biomassa, sacarino e forrageiro. Dissertação (mestrado) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – Minas Gerais. 68p. 2016.

BEHERA, S., ARORA, R., NANDHAGOPAL, N., KUMAR, S. 2014. “Importance of chemical pretreatment for bioconversion of lignocellulosic biomass”, Renewable and Sustainable Energy Reviews, v. 36, pp. 91–106, 2014.

BIOFUTURE PLATAFORM, 2017. Disponível em: <http://www.itamaraty.gov.br/pt-BR/notas-a-imprensa/17880-anuncio-da-declaracao-de-visao-da-plataforma-para-o-biofuturo-plataforma-para-o-biofuturo-bonn-16-de-novembro-de-2017>. Acesso em 24 de março de 2020.

BIZZO, W. A. Tecnologias da biomassa para conversão de energia. In: DIVERSIFICAÇÃO energética: uma estratégia de desenvolvimento para o Rio Grande do Norte. Natal: UFRN, 2007.

BRIENZO, M., ABUD, Y., FERREIRA, S., CORRALES, R. C., FERREIRA LEITÃO, V. S., DE SOUZA, W., ; SANT'ANNA, C. (2016). Characterization of anatomy, lignin distribution, and response to pretreatments of sugarcane culm node and internode. *Industrial Crops and Products*, 84, 305-313.

CADETE, R.M.; ALMEIDA E SILVA, J.B.; SOLENZAL, A.I.N. Eucalyptus hydrolysate detoxification with activated charcoal adsorption or ion-exchange resins for xylitol production. *Process Biochemistry*, v.39, p.1909-1912, 2009.

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.

CANILHA, L.; CHANDEL, A. K.; MILESSI, T. S. S.; ANTUNES, F. A. F.; FREITAS, W. L. C.; FELIPE, M. G. A.; SILVA, S. S. Bioconversion of sugarcane biomass into ethanol: an overview about composition, pretreatment methods, detoxification of

hydrolysates, enzymatic saccharification, and ethanol fermentation. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, v. 2012, 15 p., 2012.

CARDONA, C. A., QUINTERO, J. A., PAZ, I. C., 2010, "Production of Bioethanol from Sugarcane Bagasse: Status and Perspectives", *Bioresource Technology*. v. 101, pp. 4754-4766, 2010.

CARRILLO, M.A.; CARRILLO, S.A.; STAGGENBORG J.A.; PINEDA, J. Washing sorghum biomass with water to improve its quality for combustion. *Fuel*, London, v.116, p. 427-431, 2014.

CECCATO-ANTONINI, S.R.; CODATO, C.B.; MARTINI, C.; BASTOS, R.G; TAUKE-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.133-157. 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.

CGEE - Centro de Gestão e Estudos Estratégicos (CGEE). *Agenda Positiva da Mudança do Clima e do Desenvolvimento Sustentável. Relatório prospecção etanol*

de segunda geração - E2G 2030. Panorama analítico prospectivo dos biocombustíveis e bioprodutos. Brasília, DF Dezembro, 2018.

CHANDRA, R. P., ARANTES, V., ; SADDLER, J. Steam pretreatment of agricultural residues facilitates hemicellulose recovery while enhancing enzyme accessibility to cellulose. *Bioresource technology*, 185, 302-307. 2015.

CHANDRA, R. P., ESTEGHLALIAN, A. R., ; SADDLER, J. N.. Assessing substrate accessibility to enzymatic hydrolysis by cellulases. *Characterization of lignocellulosic materials*, 60-80, 2008.

CHEMMÉS, C. S.; SILVA, F. C.; SOUZA, L. S.; JUNIOR, R. A. A.; CAMPOS, L. M. A. Estudo de métodos físico-químicos no pré-tratamento de resíduos lignocelulóticos para produção de etanol de segunda geração. Salvador, 2013.

CHEN, W., XU, Y., HWANG W., WANG, J. B., 2011, "Pretreatment of rice straw using an extrusion/extraction process at bench-scale for producing cellulosic ethanol", *Bioresource Technology*, v. 102, pp. 10451-10458, 2011.

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.

COPERSUCAR. Proálcool: Fundamentos e Perspectivas. 2ed. São Paulo, 121 pgs, 1988.

COSTA, G. H. G.; Emprego do extrato de moringa (*Moringa oleífera* Lamarck) na clarificação do caldo de cana para produção de açúcar e etanol. Tese de Doutorado. Faculdade de Ciências Agrárias e Veteriárias – Unesp Jaboticabal, 2015.

CTC. Manual de métodos de análises para açúcar. Piracicaba, Centro de Tecnologia Canavieira, Laboratório de análises, Disponível em CD ROM. 2009.

DAHLBERG, J.; WOLFRUM, E.; BEAN, B.; ROONEY, W. L. Compositional and agronomic evaluation of sorghum biomass as a potential feedstock for renewable fuels. *Journal of Biobased Materials and Bioenergy*, v. 5, n. 4, p. 507-513, 2011.

DAVISON, B. H., PARKS, J., DAVIS, M. F.; DONOHOE, B. S. (2013). Plant cell walls: basics of structure, chemistry, accessibility and the influence on conversion. *Aqueous Pretreatment of Plant Biomass for Biological and Chemical Conversion to Fuels and Chemicals*, 23-38, 2013.

EMBRAPA, 2014. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-solucoes-tecnologicas/-/produto-servico/4654/sorgo-biomassa-brs-716>. Acesso em: 22 de março de 2020.

EMBRAPA, 2018. Disponível em: file:///C:/Users/DELL/Downloads/CultivodoSorgobiomassadoc-152_13.pdf. Acesso em 22 de março de 2020.

EMBRAPA, 2019. Disponível em: <https://www.canalrural.com.br/noticias/feiras-e-eventos/biomassa-sorgo-de-seis-metros-e-alternativa-na-geracao-de-energia/> Acesso em 22 de março de 2020.

EPE – Empresa de Pesquisa Energética, 2017. Disponível em: <http://www.epe.gov.br/sites-pt/publicacoes-dados-abertos/publicacoes/03/topico-397/Relat%C3%B3rio%20S%C3%ADntese%202018-ab%202017vff.pdf>. Acesso em 18 de março de 2020.

EPE – Empresa de Pesquisa Energética, 2020. Disponível em: http://www.epe.gov.br/sites-pt/publicacoes-dados-abertos/publicacoes/PublicacoesArquivos/publicacao-40/topico-74/Cap8_Texto.pdf. Acesso em 18 de março de 2020.

ESTEGHLALIAN, A. R., BILODEAU, M., MANSFIELD, S. D., ; SADDLER, J. N. (2001). Do enzymatic hydrolyzability and Simons' stain reflect the changes in the accessibility of lignocellulosic substrates to cellulase enzymes? *Biotechnology progress*, 17(6), 1049-1054.

FELIPE, M.G.A., et al. Effect of acetic acid on xylose fermentation to xilitol by *Candida guilliermondii*. *Journal of Basic Microbiology*, v.35. n.3, p.171-177, 2004.

FENGEL, D.; WEGENER, G., 1989. Wood: Chemistry, Ultrastructure, Reactions, Berlin/New York: Walter de Gruyter. 613p.

FREITA, L. A.; COSTA, G. H. G. ; MASSON, I. S. ; FERREIRA, O. E. ; MUTTON, M. A. ; MUTTON, M. J. R. . Chemico-technological parameters and maturation curves of sweet sorghum genotypes for bioethanol production.. African Journal of Agricultural Research, v. 9(50), p. 3638-3644, 2014.

FREITA, C. M.; FREITA, L. A.; TRALLI, L.F.; SILVA, A. F.; MENDES, F. Q.; TEIXEIRA, V.; MUTTON, M. J.R. Bioethanol production with different dosages of the commercial AcryLAMide polymer compared to a Bioextract in clarifying sugarcane juice. ANAIS DA ACADEMIA BRASILEIRA DE CIÊNCIAS (ONLINE), v. 89, p. 3093-3102, 2017a.

FREITA, L. A. Produção de etanol de segunda geração utilizando bagaço de sorgo sacarino. Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutora em Microbiologia Agropecuária.2017b.

FREITA, C.M; COSTA, G.H.G; MENDES, F.Q; MUTTON, M.J.R; FREITA, L.A. *M. oleífera* LAM seed extract as sugarcane juice clarifier. Ciência ; Tecnologia. v.6. 2014.

FUGITA, T. P. L. Desempenho de leveduras que metabolizam xilose para produção de etanol em hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana. 2010. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agropecuária) - Faculdade de Ciências Agrárias e

Veterinárias Campus de Jaboticabal, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico. 2010.

FULTON, L. M.; LYND, L.R.; KÖRNER, A.; GREENE, N.; TONACHEL, L.R. The need for biofuels as part of a low carbon energy future. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, v. 9, n. 5, p. 476-483, 2015.

GALBE, M.; ZACCHI, G. Pretreatment of lignocellulosic materials for efficient bioethanol production. *Advances in Biochemical Engineering / Biotechnology*, v. 108, p. 41-65, 2007.

GÁMEZ S, GONZÁLEZ JJ, RAMÍREZ JA, GARROTE G, VÁZQUEZ M. Study of the sugarcane bagasse hydrolysis by using phosphoric acid. *J Food Eng.* 2006; 74: 78-88.

GRANBIO, 2017. Disponível em : <http://www.granbio.com.br/conteudos/cana-energia/>. Acesso em: 22 de março de 2020.

GEOCITIES. Fórmula estrutural da celulose. Disponível em: <http://www.geocities.com/CapeCanaveral/Launchpad/9071/celulose.gif>. Acesso em 20 de março de 2020.

GINORIS, Y.P. Avaliação e tratamentos do hidrolisado de eucalipto para produção biotecnológica de xilitol por *Candida guilliermondii*. 2001. Dissertação (Mestrado) - Depto. de Biotecnologia, Faculdade de Engenharia Química de Lorena, Lorena, São

Paulo, 2001.

GRANBIO, 2018. Disponível em:
<https://www.embrapa.br/documents/1355063/32772467/Jose%CC%81+Bressiani.pdf/69cb6c5f-d27e-a7ef-6285-8a40ac1c3040>. Acesso em 22 de março de 2020.

GUALBERTO, A.F.; FERRARI, G.M.; ABREU, K.M.; PRETO, B.; LIMA, FERRARI, J.L. Characteristics, properties and potential of *M. oleífera* LAM (*M. oleífera* LAM oleífera LAM.): agroecological aspects. Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável. 2014.

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.

GINORIS, V.A.M.; ARAUJO, A.V.; MARTÍNEZ, P.A.H.; ALVARENGA, E.M.; DIAS, D.C.F.S. Immersion time in toxic solution for vigor evaluation of bean seeds. Journal of Seed Science, 36(1), 108-113, 2001.

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.

HASSUANI, S., LEAL, M., ; MACEDO, I. Biomass power generation: Sugar cane bagasse and trash. PNUD - Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento. Pirecicaba: PNUDCTC, 2005.

HENDRIKS, A. T. W. M.; ZEEMAN, G. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*, v. 100, p. 10-18, 2009.

HOFFMAN, L.; ROONEY, W. L. Accumulation of biomass and compositional change over the growth season for six photoperiod sorghum lines. In: NATIONAL CONFERENCE SCIENCE FOR BIOMASS FEEDSTOCK PRODUCTION AND UTILIZATION, 2012, New Orleans. Disponível em: <http://sungrant.tennessee.edu/NR/rdonlyres/430141C3-38B5-4265-BAC4-E89C9239B62A/3278/LeoHoffmann_TexasAMUniversity.pdf>. Acesso em: 10 jun. 2013.

IEA – INSTITUTO DE ECONOMIA AGRONÔMICA. Disponível em : <http://www.iea.sp.gov.br/ftpiea/AIA/AIA-19-2017.pdf>. 2017. Acesso 20 de março de 2020.

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;113:76-78. 2012.

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.

JEFFRIES, T.W., LIGHTFFOT, E.N., FADY, J.H. Effect of Glucose Supplements on the Fermentation of Xylose by *Pachsolon tannophilus*. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 27, p. 171-176, 2007.

JENKINS, B., BAXTER, L., MILES, T., ; MILES, T. Combustion properties of biomass. *Fuel Processing Technology*, v.54, pp.17-46, 2018.

JIANG, J.; WANG, J.; ZHANG, X.; WOLCOTT, M. Evaluation of physical structural features on influencing enzymatic hydrolysis efficiency of micronized wood. *RSC Advances*, v. 6, p. 103026-103034, 2016.

JORGENSEN, H.; KRISTENSEN, J. B.; FELBY, C. Enzymatic conversion of lignocellulose into fermentable sugars: challenges and opportunities. *Biofuels, Bioproducts ; Biorefining*, v. 1, p. 119-134, Junho 2007.

KELLY, C.; JONES, O.; BARHART, C.; LAJOIE, C. Effect of the furfural, vanilil on *candida guilliermondii* growth and xylitol biosynteses. *Biochem, Biotechnol*, 2008.

KRAHULEC, S.; KRATZER, R.; LONGUS, K.; NIDETZKY, B.; KUMAR, B. Comparison of P. et al. Methods for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Efficient Hydrolysis and Biofuel Production. Industrial; Engineering Chemistry Research , v. 48, p. 3713-3729, Março 2009.

KRAHULEC, K.; KLIMACEK,M.; NIDETZKY, B. Analysis and prediction of the physiological effects of altered coenzyme specificity in xylose reductase and xylitol dehydrogenase during xylose fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*, Journal of Biotechnology, Volume 158, Issue 4, 2012.

LANGE, J.; KEENEY, S.; MOHIBULLAH, N.; Auto-organização da iniciação da recombinação meiótica: princípios gerais e vias moleculares. Ann Rev Genet. 48 , 187-214, 2007.

LARSSON, D.E., TATARANNI, P.A., FERRARO, R.T., RAVUSSIN, E. Ad libitum food intake on a "cafeteria diet" in Native American women: relations with body composition and 24-h energy expenditure. American Journal of Clinical Nutrition, Bethesda, v.62, n.5, p.911-917, 2000.

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

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. Princípios de Bioquímica. 3. ed. São Paulo: Sarvier, 839 p. 2015.

LEU, S. Y.; ZHU, J. Y. (2013). Substrate-related factors affecting enzymatic saccharification of lignocelluloses: our recent understanding. *Bioenergy Research*, 6(2), 405-415.

LI, Z.; HUANG, C.; BAO, C.; CHEN, L.; LINMWANG, X.; ZHONG, G.; YU, B.; HUW, DAIL. 2015. Exon–intron circular RNAs regulate transcription in the nucleus. *Nature Structural; Molecular Biology* 22: 256–264. 2015.

LIN Y, TANAKA S. Ethanol fermentation from biomass resources: current state and prospects. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2006 Feb;69(6):627-42. doi: 10.1007/s00253-005-0229-x. Epub 2005 Dec 6. PMID: 16331454, 2006.

MACRI, R. C. V; COSTA, G. H. G; MONTIJO, N. A; FERREIRA, A. S.; MUTTON, M. J. R. *M. oleífera* LAM extracts used in sugarcane juice treatment and effects on ethanolic fermentation, v.13, p. 4121-4130, 2014.

MANYÀ, J. J.; ARAUZO, J. An alternative kinetic approach to describe the isothermal pyrolysis of micro-particles of sugar cane bagasse. *Chemical Engineering Journal*, v.139, pp.549-561, 2008.

MARTINEZ, E.A., et al. Effects of $\text{Ca}(\text{OH})_2$ Treatment (“Overliming”) on the Composition and Toxicity of Bagasse Hemicellulose Hydrolysate. *Biotechnology and Bioengineering*, v.69, n.5, p.526-536, 2000.

MARTON, J.M. Avaliação de diferentes carvões ativos e das condições de adsorção no tratamento do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana para obtenção biotecnológica de xilitol, 1998. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Industrial)-Escola de Engenharia de Lorena (EEL), 1998.

MARTON, J.M. Avaliação de um sistema contínuo composto por colunas de carvão ativo e resinas de troca iônica para o tratamento do hidrolisado hemicelulósico de bagaço de cana de açúcar. Dissertação (Doutorado em Biotecnologia Industrial), p. 131, Escola de Engenharia de Lorena – EEL – USP. Departamento de Biotecnologia, 2001.

MARTON, J.M. et al. Evaluation of the activated charcoals and adsorption conditions used in the treatment of sugarcane bagasse hydrolysate for xylitol production. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, v.23, n.1, p.9-21, 2006.

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.

MILESSI, T.S.S.; ANTUNES, F.A.F.; CHANDEL, A.K.; SILVA, S.S. Rice bran extract: an inexpensive nitrogen source for the production of the 2G ethanol from sugar cane bagasse hydrolysate. *3 Biotech*. 2013.

MONLAU-BARAKAT, F. OLIVEIRA, L.M.; SCHUCH, L.O.B.; BRUNO, R.L.A.; PESKE, S.T. Lignocellulosic Materials Into Biohydrogen and Biomethane: Impact of Structural Features and Pretreatment. *Environmental Science and Technology*, v. 43, p. 260–322, Fevereiro 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1080/10643389.2011.604258> Acesso em 22 de março de 2020.

MOORE, P. H.; BOTHA, F. C. Sugarcane: physiology, biochemistry ; functional biology. Oxford: Wiley Blackwell, 2014. 716p.

MORTON, J. F. The horseradish tree, *M. oleífera* LAM pterygosperma (*M. oleífera* LAMceae) - a boon to arid lands? *Economy Botany*, v.45, n.3, p.318-333. 1991.

MUTTON, M.J.R.; FERRARI, F.C.S.; FREITA, L.A.; FREITA, C.M.; ANDRIETTA, M.G.; ANDRIETTA, S.R.; Interaction between the production of ethanol and glycerol in fed-batch bioreactors. *Braz J Microbiol* 50, 389–394. 2019.

MOSIER, N.; WYMAN, C.; DALE, B.; ELANDER, R.; LEE, Y.Y. HOLTZAPPLE, M.; LADISCH, M., Features of promising Technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*, v. 96, p. 673-686, 2005.

NAKASU, Y. Enhanced 2,3-Butanediol Production by Addition of Acetic Acid in *Paenibacillus polymyxa*. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, v. 90, n. 6, p. 661-664, 2015.

NAKAMURA, Y.; SAWADA, T.; INOUE, I. Produção aprimorada de etanol a partir de palha de arroz explodida a vapor tratada enzimaticamente usando fermentação extrativa. *Journal of the Chemical Technology and Biotechnology*, volume 76, 2001.

NEXSTEPPE, Sementes do Brasil Ltda. Disponível em: <http://www.biomassabr.com/bio/detalhes.asp?id=303;idatividade>, 2018. Acesso em 10 de janeiro de 2021.

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.

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.

NOGUEIRA, L. A. et al. Bioetanol de cana-de-açúcar: energia para o desenvolvimento sustentável. Rio de Janeiro: BNDES, 2008.

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.

OH, Y. H.; OLSON, S.N.; RITTER K.; ROONEY W.; KEMANIAN A.; MCCARL B. A.; ZHANG Y.; HALL, S.; PACKER, D; MULLET, J. Recent advances in development of biomass pretreatment technologies used in biorefinery for the production of bio-based fuels, chemicals and polymers. Korean Journal of Chemical Engineering, v. 32, p. 1945–1959, Outubro 2015.

PAGNOCCA, F; OENNING, R.; MARNEY, P. C.; GOMES, E.; MARTINS, G.; SILVA, R. Seleção de cepas de levedura para fermentação de xilose. Braz. arco. biol. technol. vol.59 Curitiba, 2015.

PALMQVIST, B; BARBELHAN, H.fermentation of lignocellulosic hydrolysates. II: inhibitors and echanisms of inhibition. Bioresource Technology. Volume 74, Issue 1, August 2000, Pages 25-33. 2000.

PALONEN, Hetti. Role of lignin in the enzymatic hydrolysis of lignocellulose. VTT Technical Research Centre of Finland, 2004.

PARAJÓ, J.C.; ALONSO, J.L.; SANTOS, V. Kinetics of eucalyptus wood fraction in acetic acid-HCl-water media. Bioresource Technology, v. 51, p. 153-162, 1996.

PARAJÓ, J.C.; DOMÍNGUEZ, H. DOMÍNGUEZ, J.M. Biotechnological production of

xylitol. Part 1: Interest of xylitol and fundamentals of its biosynthesis. *Bioresource technology*, v. 65, p. 191-201, 1997.

PARAJÓ, J.C.; DOMÍNGUEZ, H. DOMÍNGUEZ, J.M. Biotechnological production of xylitol. Part 2: Operation in culture media made with commercial sugars. *Bioresource Technology*, v. 65, p. 203-212, 1998.

PARRELLA, R. A. C; MENEGUCI, J. L. P; RIBEIRO, A; SILVA, A. R; PARRELLA, N. L. D; RODRIGUES, J. A; TARDIN, F.D; SCHAFFERT, R. E. Desempenho de cultivares de sorgo sacarino em diferentes ambientes visando à produção de etanol. Resumos expandidos. In: Congresso Nacional de Milho e Sorgo, 2010. Goiânia.

PATURAU, J. M. By-products of the cane sugar industry: an introduction to their industrial utilization. 3^aed. Amsterdam: Elsevier, 1989. 435p.

PAUDEL, S. R.; BANJARA, S.P.; CHOI, O.K.; PARK, K.Y.; KIM, Y.M.; LEE, J.W. Pretreatment of agricultural biomass for anaerobic digestion: Current state and challenges. *Bioresource Technology*, v. 245, p. 1194–1205, Stembro 2017.

PEREIRA FILHO, I. A.; PARRELLA, R. A. C.; MOEREIRA, J. A. A.; MAY, A., SOUZA, V. F., CRUZ, J. C. Avaliação de Cultivares de Sorgo Sacarino [Shorgum bicolor (L.) Moench] em Diferentes Densidades de Semeadura Visando à Obtenção de Etanol. Resumos expandidos. In: XXIX Congresso Nacional de Milho e Sorgo, 2012. Águas de Lindóia.

POUMAYE, N, MABINGUI, J, LUTGEN, P, BIGAN, M, Contribution to the clarification of surface water from the *M. oleífera* LAM oleífera: Case M'Poko River to Bangui, Central African Republic. Chemical Engineering Research and Design, v.90, n.12, 2012.

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.

RABELO, S.; MARTINS, L.; COSTA, A. Effects of the pretreatment method on high solids enzymatic hydrolysis and ethanol fermentation of the cellulosic fraction of sugarcane bagasse. Bioresource Technology. 191. 10.1016/j.biortech.2015.05.024. 2011.

RAVANELI, G.C; GARCIA, D.B; MADALENO L.L; MUTTON, M.A; STUPIELLO J.P; MUTTON, M.J.R. Spittlebug impacts on sugarcane quality and ethanol production. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.46, n.2, p. 120-129, 2011.

RENOVABIO, Política Nacional de Biocombustíveis. Disponível em: <http://legislacao.anp.gov.br/?path=legislacao-anp/resol-mp/2019/junho;item=ranp-791-2020>. Acesso em 28/01/2020.

ROONEY, W. L.; BLUMENTHAL, J.; BEAN, B.; MULLET, J. E. Designing sorghum as a dedicated bioenergy feedstock. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, Chichester, v. 1, p. 147-157, 2007.

ROVIERO, J. P.; ARRUDA, P. V.; FELIPE, M. G. A.; MUTTON, M. J. R. . Ethanol production using hemicellulosic hydrolyzate and sugarcane juice with yeasts that convert pentoses and hexoses. *African Journal of Biotechnology*, v. 14(6), p. 519-524, 2015.

ROVIERO, J.P. Biomassa derivada de cana-de-açúcar e cana energia submetidas a hidrólise ácida e enzimática para produção de etanol. Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutora em Microbiologia Agropecuária, 2017.

RUBIN, M.; KALE, G.; KIJCHAVENGKUL, T.; AURAS, R.; SELKE, S. E.; SINGH, S. P. Compostability of bioplastic packaging materials: An overview. *Macromolecular Bioscience*, v. 7, n. 3, p. 255–277, 2008.

SABERMAS. Representação estrutural das paredes celulares dos vegetais. Disponível em: <https://www.sabermas.umich.mx/archivo/articulos/323-numero-38/587-pared-celular-de-las-plantas-funcion-estructura-y-aplicaciones.html>. Acesso em: 18 de março de 2020.

SANTOS, R.M.Dos. Extração e Caracterização de Nanocristais de celulose a partir de folhas de abacaxi. Dissertação (mestrado). 2013. 80 p. Universidade Federal de Uberlândia, 2013.

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.

SANTUCCI, B. S.; MAZIERO, P.; RABELO, S. C.; CURVELO, A. A. S.; PIMENTA, M. T. B. Autohydrolysis of hemicelluloses from sugarcane bagasse during hydrothermal pretreatment: a kinetic assessment. *Bioenergy Research*, v. 8, p. 1778-1787, 2015.

SANTUCCI, B.S.; Estudo dos efeitos dos tratamentos físicomecânicos na hidrólise da celulose do bagaço de cana-de-açúcar. Tese apresentada ao Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo como parte dos requisitos para a obtenção do título de doutor em química. 2018.

SILVA, S. Use of a fluidized bed reactor operated in semi-continuous mode for xylose-to-xylitol conversion by *C. guilliermondii* immobilized on porous glass. *Process Biochemistry*, v.38, p.903-907, 2006.

SILVA, A. L. B. B.; SILVA, E. O. da. Conhecendo materiais poliméricos, 2011. Disponível em: <<http://pt.scribd.com/doc/55442446/54924150-polimeros>>. Acesso em: 18 de março de 2020.

SILVA, A. S.; INOUE, H.; ENDO, T.; YANO, S.; BON, E. P. S. Milling pretreatment of sugarcane bagasse and straw for enzymatic hydrolysis and ethanol fermentation. *Bioresource Technology*, v. 101, p. 7402-7409, 2013.

SILVA, G. G. D.; COUTURIER, M.; BERRIN, J. G.; BULÉON, A.; ROUAU, X. Effects of grinding processes on enzymatic degradation of wheat straw. *Bioresource Technology*, v. 103, p. 192-200, 2012.

SILVA, R.M. Caracterização física química das cinzas de palha de cana-de-açúcar através de análises térmicas simultâneas (STA) / Diego Luis Franco Jacome. – Campinas, SP: [s.n.], 2014.

SILVA-FERNANDES, A.T.; SANTOS, J.C.; HASMANN, F.; RODRIGUES, R.C.L.B.; IZARIO, H.J.; FELIPE, M.G.A. Biodegradable alternative for removing toxic compounds from sugarcane bagasse hemicellulosic hydrolysates for valorization in biorefineries. *Bioresource Technology*, 2017.

SINGHA, J., SUHAG, M., DHAKAC, A. 2015. “Augmented digestion of lignocellulose by steam explosion, acid and alkaline pretreatment methods: A review”, *Carbohydrate Polymers*. v. 117, pp. 624–631, 2015.

SLUITER JB, CHUM H, GOMES AC, TAVARES RAP, AZEVEDO V, PIMENTA MTB. Evaluation of brazilian sugarcane bagasse characterization: an interlaboratory comparison study. *J AOAC Int* 2016;99(3):579–85.

SOUSA, J. L. U.; Monteiro, R. A. B.; FAZU, F.; Comparison of *Scheffersomyces stipitis* strains CBS 5773 and CBS 6054 with regard to their xylose metabolism: implications for xylose fermentation.2011.

STONE, E. J.; HOMAN, E. S., MORRIS, H. F.,; FRYE, J. B. Chemical pretreatment of roughages. In journal of animal science (vol. 24, no. 3, p. 910). 1111 north dunlap ave, savoy, il 61874: amer soc animal Science, 1965.

SUN, S.; SUN, S.; CAO, X.; SUN, R. The role of pretreatment in improving the enzymatic hydrolysis of lignocellulosic materials. *Bioresource Technology*, v. 199, p. 49-58, 2016.

SUN, Y., CHENG, J. Hydrolysis of lignocellulosic materials for ethanol production: a review. *Bioresource Technology*, 83:1–11, 2002.

STUPIELLO, J. P., HORII, J. Condução da fermentação alcoólica. Departamento de Tecnologia Rural - ESALQ, 4, n. 17.,1981.

TAHERZADEH, M. ; KARIMI, K. Pretreatment of Lignocellulosic Wastes to Improve Ethanol and Biogas Production: A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 2008. 1621-1651. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.3390%2Fijms9091621> Acesso em 22 de março de 2020.

TRALLI, L.F. Fermentação de mosto obtido da hidrólise de sorgo sacarino para produção de etanol por *P. kudriavzevii*. 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.

ULLAH, A; MARIUTTI R; MASOOD, R; CARUSO, I.P; COSTA, G.H; FREITA, C.M; MUTTON, M.J.R; Crystal Structure of mature 2S albumin from *M. oleífera* LAM oleífera seeds. Biochemical and Biophysical Research Communications. 2015.

ÚNICA. A União da Indústria de Cana-de-Açúcar. 2013. Disponível em: <https://unica.com.br/noticias/unica-confirma-realizacao-do-4-ethanol-summit-em-2013/>. Acesso em: 24 de março de 2020.

ÚNICA. A União da Indústria de Cana-de-Açúcar. 2020. Disponível em: <https://unica.com.br/setor-sucroenergetico/outros-produtos/>. Acesso em 24 de março de 2020.

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.

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

WOLBACH, D.J.; THOMPSON, D.A.; GASCH, A.P.; REGEV, A. From elements to modules: regulatory evolution in Ascomycota fungi. *Current Opinion in Genetics ; Development*, 19, 1–8, 2011.

ZAMPIERI, D. Expressão do complexo celulolítico em *Penicillium echinulatum*. Caxias do Sul: UCS, 2011. (Dissertação de Mestrado).

ZHENG, L.; ZHANG, M.; ZHOU, Q.; CHEN, J.; ZENG, F.; BIOSCI., *Biotechnol., Revista Biochem.* 2014.

ZHU, J. Y.; PAN, X.; ZALESNY, R. S. Pretreatment of woody biomass for biofuel production: energy efficiency, technologies, and recalcitrance. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 87(3), 847-857, 2010.