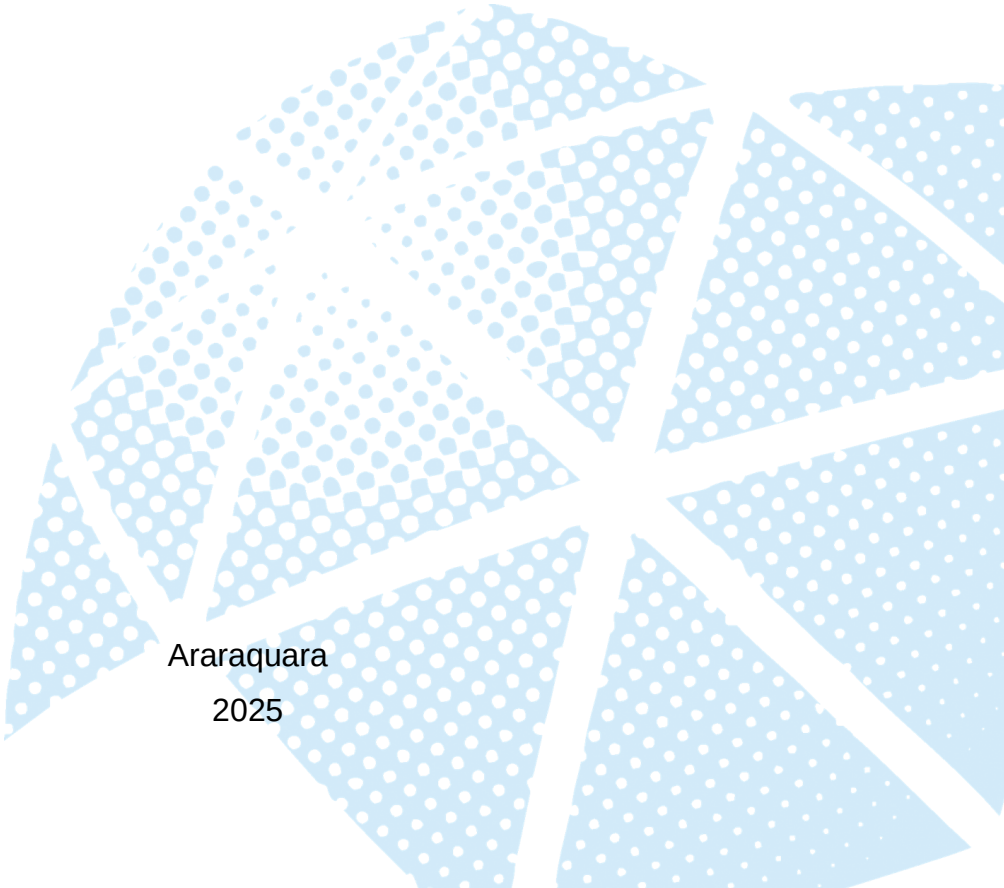


UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
Instituto de Química - Câmpus de Araraquara

SÂMILLA GABRIELLA COÊLHO DE ALMEIDA

Valorização da biomassa de cana-de-açúcar em dois cenários: fermentação para
produção de biolipídios e desenvolvimento de biocompósitos

Araraquara
2025



SÂMILLA GABRIELLA COELHO DE ALMEIDA

Valorização da biomassa de cana-de-açúcar em dois cenários: fermentação para produção de biolipídios e desenvolvimento de biocompósitos

Tese apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Química, Araraquara, para obtenção do título de Doutora em Biotecnologia.

Área de Concentração: Biotecnologia
Ambiental e Industrial

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Kelly Johana
Dussán Medina

Araraquara

2025

A447v

Almeida, Sâmilla Gabriella Coêlho de
Valorização da biomassa de cana-de-açúcar em dois
cenários : fermentação para produção de biolipídios e
desenvolvimento de biocompósitos / Sâmilla Gabriella Coêlho
de Almeida. -- Araraquara, 2025
164 f. : il.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP),
Instituto de Química, Araraquara
Orientadora: Kelly Johana Dussán Medina

1. Lipídios. 2. Lignocelulose. 3. Compósitos. 4. Cana de
açúcar - Bagaço. 5. Economia circular. I. Título.

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

O estudo de estratégias para agregar valor aos materiais lignocelulósicos é uma necessidade global. A biomassa lignocelulósica contém açúcares e componentes aromáticos em sua parede celular que são de interesse industrial. Neste estudo foram empregadas etapas de tratamento para o fracionamento dos constituintes da biomassa lignocelulósica seguida da valorização da fração hemicelulósica para produção de lipídios microbianos e a celulose-lignina para desenvolvimento de biocompósitos livre de formaldeído. Este trabalho inova ao destacar o potencial da biomassa para alcançar alguns dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS), a saber, Ação Climática (ODS 13), Indústria, Inovação e Infraestrutura (ODS 9) e Consumo e Produção Sustentáveis (ODS 12).

POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

The study of strategies to add value to lignocellulosic components is a global necessity. Lignocellulosic biomass contains sugars and aromatic components of interest in its cell wall that are of industrial interest. In this study, treatment steps were employed for the fractionation of the lignocellulosic constituents followed by the valorization of the hemicellulosic fraction for the microbial lipid production and development of cellulose-lignin biocomposites formaldehyde free. This work is innovative in highlighting the potential of biomass to achieve some of the Sustainable Development Goals (SDGs), namely Climate Action (SDG 13), Industry, Innovation, and Infrastructure (SDG 9), and Responsible Consumption and Production (SDG 12).

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: "Valorização da biomassa de cana-de-açúcar em dois cenários: fermentação para produção de biolipídios e desenvolvimento de biocompósitos"

AUTORA: SÂMILLA GABRIELLA COELHO DE ALMEIDA

ORIENTADORA: KELLY JOHANA DUSSAN MEDINA

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



Profa. Dra. KELLY JOHANA DUSSAN MEDINA (Participação Presencial)
Departamento de Engenharia Química / Instituto de Química - UNESP - Araraquara

Dra. LARISSA PEREIRA BRUMANO (Participação Virtual)
Centro de Ciências Naturais e Humanas / Universidade Federal do ABC - UFABC - Santo André

Profa. Dra. CRISTIANE INACIO DE CAMPOS (Participação Virtual)
Departamento de Ciências e Tecnologia / Instituto de Ciências e Engenharia - UNESP - Itapeva

Profa. Dra. VALÉRIA DE CARVALHO SANTOS EBINUMA (Participação Virtual)
Departamento de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia / Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP - Araraquara

Prof. Dr. BRUNO SANTOS FERREIRA (Participação Virtual)
Departamento de Engenharia / Instituto de Ciências e Engenharia - UNESP - Itapeva

Araraquara, 21 de fevereiro de 2025

DADOS CURRICULARES

IDENTIFICAÇÃO	
	SÂMILLA GABRIELLA COELHO DE ALMEIDA 01/09/1994
Nacionalidade	Brasileira
Nome em citações bibliográficas:	Almeida, Sâmilla Gabriella Coelho Almeida, S. G. C. Sâmilla G.C. de Almeida
Endereço profissional	Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Química, Campus de Araraquara Departamento de Engenharia, Física e Matemática Rua Francisco Degni, 55 Quitandinha, Araraquara – SP CEP 14800-900
Currículo Lattes	http://lattes.cnpq.br/2267366405204137
ORCID	https://orcid.org/0000-0001-5411-6955
FORMAÇÃO ACADÊMICA	
2012/2017	Bacharelado em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia Universidade Federal do Tocantins (UFT)
2018/2020	Mestrado em Biotecnologia Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Química
2023/2024	Período sanduíche na Queensland University of Technology (QUT)
PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA	
Almeida, S.G.C., Souza, J.P., Fogarin, H. M., Franca, B.V., Dussán, K.J. Assessment of lipid synthesis from sugarcane biomass by adaptive strains of <i>Rhodospiridium toruloides</i>. <i>Biomass Conversion and Biorefinery</i> (2024). DOI: 10.1007/s13399-024-05499-0. Souza, J. P., Fogarin, H. M., Almeida, S.G.C., Santos, B.C. S., Silva, D.D.V., Dussán, K.J. Fermentation of sugarcane biomass hemicellulosic hydrolysate by yeast-producer of xylitol and ethanol isolated from the Atlantic Forest and the Brazilian Amazon Forest. <i>Waste and Biomass Valorization</i> (2024). DOI: 10.1007/s12649-024-02535-y. S. G. C. Almeida, M. A. M. Costa, K. J. Dussan. Study of combustion of bagasse/straw sugarcane and its atmospheric emissions using a pilot-burner.	

Environmental Science and Pollution Research (2023). DOI: [10.1007/s11356-023-28171-y](https://doi.org/10.1007/s11356-023-28171-y).

S.G.C. Almeida, G.F. Mello, T.K. Kovacs, D.D.V. Silva, M.A.M. Costa, K.J. Dussán, Furfural production through two bioconversion routes: experimental optimization and process simulation. *Waste & Biomass Valorization* (2022). DOI: [10.1007/s12649-022-01825-7](https://doi.org/10.1007/s12649-022-01825-7).

S. G. C. de Almeida, L. A. C. Tarelho, T. Hauschild, M. A. M. Costa, K. J. Dussán. Biochar production from sugarcane biomass using slow pyrolysis: Characterization of the solid fraction. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification* (2022). DOI: [10.1016/j.cep.2022.109054](https://doi.org/10.1016/j.cep.2022.109054).

S. G. C. de Almeida, G. F. de Mello, M. G. do Santos, D. D. V. da Silva, E. C. Giese, M. Hassanpour, Z. Zhang, K. J. Dussán. Saccharification of acid–alkali pretreated sugarcane bagasse using immobilized enzymes from *Phomopsis stipata*. *3 Biotech* (2022). DOI: [10.1007/s13205-021-03101-2](https://doi.org/10.1007/s13205-021-03101-2).

S. G. C. Almeida; J. P. de Souza; D. K. dos S. Oliveira; V. T. F. Silva, C. P. Prado, D. D. V. da Silva; K. J. D. Medina. Chapter: Methods for hemicellulose deconstruction aiming to xylose recovery: Recent progress and future perspectives. In: *Current Advances in Biotechnological Production of Xylitol*, Eds. Maria das Graças de Almeida Felipe & Anuj Kumar. Springer Verlag (2022). DOI: [10.1007/978-3-031-04942-2_1](https://doi.org/10.1007/978-3-031-04942-2_1).

M. A. M. Costa, B. M. da Silva, **S. G. C. de Almeida**, M. P. Felizardo, A. F. M. Costa, A. A. Cardoso, K. J. Dussán. Evaluation of the efficiency of a Venturi scrubber in particulate matter collection smaller than 2.5 µm emitted by biomass burning. *Environmental Science and Pollution Research* (2022). DOI: [10.1007/s11356-022-22786-3](https://doi.org/10.1007/s11356-022-22786-3).

M. A. M. Costa, H. M. Fogarin, **S. G. C. de Almeida**, K. J. Dussán. Chapter: Dry Deposition of Atmospheric Nanoparticles. In: *Biobased Nanotechnology for Green Applications* pp 585–618, 2021. DOI: [10.1007/978-3-030-61985-5_21](https://doi.org/10.1007/978-3-030-61985-5_21).

Ellen C. Giese; Debora D. V. Silva; Ana F. M. Costa; **Sâmilla G. C. Almeida**; Kelly J. Dussán. Immobilized microbial nanoparticles for biosorption. *Critical Reviews in Biotechnology* (2020). DOI: [10.1080/07388551.2020.1751583](https://doi.org/10.1080/07388551.2020.1751583).

PARTICIPAÇÃO EM BANCAS E ORIENTAÇÕES

Supervisão Científica

Franca, B. V. **Avaliação da relação C/N da levedura *Rhodospiridium toruloides* usando hidrolisado hemicelulósico de biomassa de cana-de-açúcar**. Orientadora: Profa. Dra. Kelly Johana Dussán Medina. Supervisão Científica: Sâmilla Gabriella C. de Almeida. Graduando em Engenharia Química. Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Química, Campus de Araraquara, 2023.

PARTICIPAÇÃO EM EVENTOS CIENTÍFICOS

Sâmilla de Almeida, Morteza Hassanpour, Kelly Johana Dussán, Mansi Goyal, Andreia Abadia Borges Carneiro, Zhanying Zhang. **The impact of pressing temperature on binderless fibreboard production from sugarcane bagasse**. 4th International Conference on Advanced Materials Synthesis, Characterisation, and Applications (AMSCA), 2024, Brisbane – QLD (**Apresentadora – pôster**).

Souza, J. P.; Filletti, E. R.; Fogarin, H. M.; Almeida, S. G. C.; Silva, D. D. V.; Dussan, K. J. M. **Artificial neural networks coupled genetic algorithm as a strategy for optimizing xylitol production by xylose fermenting**. 53rd Annual Meeting of the Brazilian Society of Biochemistry and Molecular Biology (SBBq), 2024, Águas de Lindóia – SP.

Sâmilla Almeida, Jonas Paulino de Souza, Bruno Valente Franca, Kelly Johana Dussán. **Evaluation of the effect Adaptive Laboratory Evolution (ALE) in *Rhodosporidium toruloides*: increasing resistance to growth inhibitors and improving sugars consumption**. WCCE11 – 11th World Congress of Chemical Engineering, 2023, Buenos Aires – Argentina (**Apresentadora – oral**).

Souza, J. P.; Fogarin, Henrique M.; Coelho, S. G.; Santos, B. C. S.; Silva, D. D. V.; Dussán, K. J. **Co-production of ethanol and xylitol from sugarcane hemicellulose hydrolysate by yeasts isolated from the Atlantic Forest and the Brazilian Amazon Forest**. 10th International Conference on Sustainable Solid Waste Management, 2023, Chania – Crete.

Coelho, S. G.; Souza, J. P.; Fogarin, Henrique M.; Franca, B. V.; Dussán, K. J. **Growth characterization of adapted *Rhodosporidium toruloides* in sugarcane biomass hemicellulosic hydrolysate**. 10th International Conference on Sustainable Solid Waste Management, 2023, Chania – Crete.

Souza, Jonas Paulino De; Almeida, Sâmilla Gabriella Coêlho De; Silva, Debora Danielle V.; Dussán, Kelly Johana. **Influence of C/N ratios on ethanol and xylitol production from sugarcane hemicellulose hydrolysate using a wild xylose-fermenting yeast from brazilian biome**. V Simpósio Internacional De Microbiologia e Biotecnologia, 2021. Viçosa – MG.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha orientadora, Profa. Dra. Kelly Johana Dussán Medina, pela orientação, incentivo e pelas valiosas oportunidades. Sua tranquilidade ao acreditar no processo, seu apoio e seus ensinamentos foram fundamentais nessa trajetória, deixando marcas que levarei para toda a vida. Aos colegas e egressos do APIBIL – Profa. Dra. Débora Danielle, Miquéias, Jonas, Henrique, Naira, Sarah, Bruno, Joaquim, Matheus, Bianca, Mariana, Letícia, Ana Paula e Carla –, minha gratidão por todo o acolhimento, pela colaboração, pelas conversas e pausas para o café, por tornarem os dias mais leves, pelas palavras de motivação e pelas risadas compartilhadas.

To Professor Dr. Zhanying Zhang, for welcoming me into your lab, for your trust, and for encouraging me to persist through challenges. To Dr. Morteza Hassanpour, who guided me during my sandwich PhD period, thank you for all the knowledge shared, your patience, and your humanity. To my CAB colleagues—Andreia, Mansi, Nethmi, Yarong, Shaik, Yiling, Taite, Yiman, and Saummi—thank you for embracing me in Australia, inspiring me to explore a new topic, and sharing your knowledge. You are the best!

Às minhas amigas de longa data, Camila e Karen, minha eterna gratidão. Araraquara só foi especial porque tive vocês ao meu lado.

Ao meu namorado, Rafael Celeste, obrigado por sempre acreditar que tudo daria certo, por ser meu apoio emocional, minha companhia, meu consultor de engenharia mecânica e gráficos no Excel. Por ter cruzado oceanos e embarcado comigo no período mais desafiador e recompensador da minha vida até agora, meu mais profundo agradecimento.

À minha família, pelo apoio incondicional ao longo desses anos de estudos, por me manterem em suas orações, acreditarem no meu potencial, me amarem e se orgulharem de mim. Este trabalho só foi possível porque sempre tive um lar para onde voltar.

Agradeço ao Departamento de Engenharia, Física e Matemática do Instituto de Química – Unesp de Araraquara - SP e ao Instituto de Pesquisa em Bioenergia (IPBEN) pelo suporte e pela infraestrutura disponibilizados para a realização desta pesquisa.

Meu agradecimento ao Prof. Dr. Carlos Augusto Rosa, da Universidade Federal de Minas Gerais, por gentilmente fornecer as leveduras utilizadas neste trabalho. Sua colaboração foi essencial para o desenvolvimento desta pesquisa.

Agradeço também a todos os funcionários do Instituto de Química da Unesp – Araraquara pelo apoio prestado.

Este trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001. Agradeço ainda ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de pesquisa (140694/2021-8) e ao Programa Institucional de Internacionalização – CAPES – PrInt (88887.839661/2023-00) pela bolsa de pesquisa no exterior.

*See what no one else sees. See what everyone
chooses not to see... out of fear, conformity or
laziness. See the whole world anew each day!*

Patch Adams

RESUMO

A biomassa lignocelulósica é uma matéria-prima promissora para rotas biológicas de produção, permitindo a obtenção de bioprodutos de alto valor agregado e impulsionando a bioeconomia. Neste contexto, a integração de processos em biorrefinarias é essencial para o aproveitamento eficiente dos diferentes componentes da biomassa. Este trabalho propõe dois cenários de valorização da biomassa de cana-de-açúcar: (i) a fermentação dos açúcares hemicelulósicos por *Rhodospiridium toruloides* para a produção de biolipídios e (ii) a fabricação de biocompósitos empregando celulose-lignina. Etapas de tratamentos químicos com ácido diluído (H_2SO_4) e alcalino (NaOH) para fracionamento da biomassa foram empregadas. Na primeira etapa, três cepas de *R. toruloides*, isoladas do bioma brasileiro, foram submetidas a um protocolo de adaptação visando aumentar a tolerância a compostos inibitórios gerados no pré-tratamento da biomassa. Esta é a primeira vez que essas cepas foram avaliadas quanto à acumulação lipídica e à tolerância ao hidrolisado hemicelulósico. A produção de óleo microbiano e o crescimento das leveduras foram comparados entre cepas adaptadas e não adaptadas, revelando que a adaptação aumentou a tolerância a compostos tóxicos, especialmente ácido acético e lignina solúvel em ácido. Como resultado, a acumulação lipídica nas cepas adaptadas foi aprimorada em 1,69, 2,51 e 2,84 vezes para *R. toruloides* 2781, 2882 e 2896, respectivamente. A cepa *R. toruloides* 2896 demonstrou o melhor desempenho, alcançando uma produtividade de $16,6 \pm 0,63 \text{ mg. L}^{-1}.\text{h}^{-1}$. Na segunda etapa, biocompósitos foram produzidos explorando a capacidade de auto-ligação dos componentes da biomassa. Foram avaliados os efeitos da temperatura (160, 180 e 200 °C) e da pressão de prensagem (8, 24 e 40 MPa) nas propriedades mecânicas dos materiais. A condição ótima (180 °C, 40 MPa, 20 min) resultou em biocompósitos com resistência à flexão de 30,21 MPa. Além disso, a lignina recuperada do licor negro gerado na produção da polpa celulósica foi testada como adesivo natural para aprimorar as propriedades físicas e mecânicas dos biocompósitos. Foram utilizadas proporções de 10, 15 e 20% de lignina combinadas à polpa celulósica. A incorporação de até 15% de lignina melhorou as propriedades mecânicas, sendo que a maior resistência à flexão (56,06 MPa) e o maior módulo de flexão (1,42 GPa) foram obtidos com 15% de lignina. Além disso, a presença de lignina conferiu maior hidrofobicidade aos biocompósitos, aumentando o ângulo de contato da água de 58,90° (sem lignina) para 91,48°, o que pode estar associado à formação de uma camada superficial hidrofóbica que reduziu a infiltração de água. Esta pesquisa explora a produção de dois bioprodutos a partir dos resíduos da cana-de-açúcar, valorizando diferentes frações da biomassa lignocelulósica. Os biolipídios produzidos consistem em matéria-prima potencial para produção de biocombustíveis, enquanto os biocompósitos podem ser utilizados em aplicações em ambientes secos, como decoração de interiores e produtos manufaturados, incluindo móveis de pequeno porte, como armários, além de painéis e revestimentos. A integração dessas estratégias em biorrefinarias amplia as possibilidades de aproveitamento da biomassa, promovendo cadeias produtivas mais sustentáveis e alinhadas aos princípios da economia circular.

Palavras-chave: leveduras oleaginosas; biomassa lignocelulósica; bioadesivos; biocompósitos; economia circular.

ABSTRACT

Lignocellulosic biomass is a promising feedstock for biological production pathways, enabling the generation of high value bioproducts and driving the bioeconomy. In this context, process integration in biorefineries is essential for efficiently utilizing the different biomass components. This study proposes two valorization strategies for sugarcane biomass: (i) the fermentation of hemicellulosic sugars by *Rhodospiridium toruloides* for biolipid production and (ii) the fabrication of cellulose-lignin based biocomposites. Biomass fractionation was achieved through chemical treatments using diluted acid (H₂SO₄) and alkaline (NaOH). In the first stage, three strains of *R. toruloides*, isolated from the Brazilian biome, underwent an adaptation protocol to enhance their tolerance to inhibitory compounds generated during biomass treatment. This is the first time these strains have been evaluated for lipid accumulation and tolerance to hemicellulosic hydrolysate. Microbial oil production and yeast growth were compared between adapted and non-adapted strains, revealing that adaptation improved tolerance to toxic compounds, particularly acetic acid and acid-soluble lignin. As a result, lipid accumulation in the adapted strains increased by 1.69, 2.51, and 2.84 times for *R. toruloides* 2781, 2882, and 2896, respectively. The *R. toruloides* 2896 strain exhibited the best performance, achieving a productivity of 16.6 ± 0.63 mg. L⁻¹.h⁻¹. In the second stage, biocomposites were produced by leveraging the self-bonding capacity of biomass components. The effects of temperature (160, 180, and 200 °C) and pressing pressure (8, 24, and 40 MPa) on the mechanical properties of the materials were evaluated. The optimal condition (180 °C, 40 MPa, 20 min) resulted in biocomposites with a flexural strength of 30.21 MPa. Additionally, lignin recovered from the black liquor generated during pulp production was tested as a natural adhesive to improve the physical and mechanical properties of the biocomposites. Lignin proportions of 10, 15, and 20% were combined with cellulose pulp, maintaining the best processing conditions. Incorporating up to 15% lignin enhanced the mechanical properties, with the highest flexural strength (56.06 MPa) and flexural modulus (1.42 GPa) achieved at 15% lignin. Furthermore, lignin incorporation increased the hydrophobicity of the biocomposites, raising the water contact angle from 58.90° (without lignin) to 91.48°, which may be attributed to a hydrophobic surface layer that reduced water infiltration. This research explores the production of two bioproducts from sugarcane residues, valorizing different fractions of lignocellulosic biomass. The produced biolipids serve as potential feedstock for biofuel production, while the biocomposites are suitable for applications in dry environments, such as interior decoration and manufactured products, including small furniture, like cupboards, as well as panels and coatings. The integration of these strategies into biorefineries expands biomass utilization possibilities, fostering more sustainable production chains aligned with the principles of the circular economy.

Keywords: oleaginous yeasts; lignocellulosic biomass; bioadhesives; biocomposites; circular economy.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura da Tese.....	24
Figura 2 - Representação da estrutura de celulose	29
Figura 3 - Hexoses e pentoses comumente encontradas na hemicelulose	30
Figura 4 - Unidades formadoras encontradas na lignina	31
Figura 5 - Principais etapas do processamento da cana-de-açúcar	33
Figura 6 - Efeito da etapa de pré-tratamento na estrutura da biomassa lignocelulósica	37
Figura 7 - Exemplos de bioprodutos gerados a partir da biomassa lignocelulósica ..	38
Figura 8 - Fluxo de citrato e malato como fontes de acetil-CoA e NADPH para a lipogênese em leveduras oleaginosas.	51
Figura 9 - Diagrama esquemático para a fabricação dos biocompósitos sem ligantes gerados a diferentes temperaturas (160, 180, 200°C) e pressão operacional (8, 24 e 40 MPa) por 20 minutos (a) e biocompósitos gerados com adição de lignina alcalina (10, 15 e 20%) (b)	83
Figura 10 - Molde de alumínio e máquina de prensagem à quente para produção dos biocompósitos.	84
Figura 11 - Balanço de massa para a hidrólise da biomassa de cana-de-açúcar	92
Figura 12 - Concentração celular das cepas de <i>R. toruloides</i> a partir de xilose (MX), glicose (MG), glicose/xilose (MGX) e glicose/xilose com adição de ácido acético (MGXAc) após 96h de cultivo.....	98
Figura 13 - Fermentação em meio semi-definido com glicose, xilose e ácido acético (MGXAc) por (A) <i>R. toruloides</i> 2882 e (B) <i>R. toruloides</i> 2896 e (C) <i>R. toruloides</i> 2781 em 28 °C e 200 rpm. -▲- glicose, -●- xilose, -■- ácido acético, -■- biomassa celular	99
Figura 14 - Acúmulo de lipídios por diferentes cepas de <i>R. toruloides</i> utilizando C-5 e C-6 como substrato	101
Figura 15 - Perfil temporal do acúmulo de biomassa (-■-) pH (-◆-) e consumo de glicose (-●-), xilose (-▲-) e ácido acético (-▼-) pelas cepas de <i>R. toruloides</i> 2882 (A), <i>R. toruloides</i> 2896 e <i>R. toruloides</i> 2781 (C) durante a fase de adaptação em HHC.	105
Figura 16 - Consumo de glicose, xilose, ácido acético, crescimento celular e pH das cepas de <i>R. toruloides</i> não-adaptadas (-●- <i>R. toruloides</i> 2882, -▼- <i>R. toruloides</i> 2781, -◆- <i>R. toruloides</i> 2896) e adaptadas (-■- <i>R. toruloides</i> 2882A, -▲- <i>R. toruloides</i> 2781A, -◆-).	107

Figura 17 - Degradação de compostos fenólicos por cepas de <i>R. toruloides</i> adaptadas e não-adaptadas cultivadas em hidrolisado hemicelulósico. Vermelho: concentração inicial de lignina solúvel; verde: concentração de lignina solúvel com 96 horas de fermentação.	111
Figura 18 - Acúmulo de lipídio pelas cepas adaptadas e não-adaptadas de <i>Rhodosporidium toruloides</i> em hidrolisado hemicelulósico não-destoxificado	113
Figura 19 - Imagens de MEV para biomassa de cana-de-açúcar não tratado (a, b), após tratamento químico alcalino (c,d).....	117
Figura 20 - Perfis térmicos da lignina alcalina obtida a partir do bagaço de cana-de-açúcar: (a) análise termogravimétrica (TG) e (b) taxa de perda de massa derivada (DTG).	119
Figura 21 - Análises quantitativas de RMN HSQC 2D para lignina recuperada após tratamento químico (NaOH) do bagaço de cana-de-açúcar. Regiões alifáticas $\delta C/\delta H$ 50-110/3,0-5,5 ppm (a), e aromáticas $\delta C/\delta H$ 90-140/6,0-8,0 ppm (b).....	121
Figura 22 - Espectros de RMN ^{31}P da amostra de lignina alcalina do bagaço de cana-de-açúcar	125
Figura 23 - Desempenho quanto a resistência à flexão dos biocompósitos gerados a diferentes temperaturas (160, 180, 200°C) (a), diferentes pressões operacionais (8, 24 e 40 MPa) (b).	126
Figura 24 - Densidade dos biocompósitos(a), Composição química da biomassa de cana-de-açúcar “in natura” (BC), polpa celulósica obtida após tratamento com NaOH (PC) e biocompósitos com incorporação de diferentes quantidades de lignina alcalina: 10, 15 e 20% (b).....	127
Figura 25 - Fotos dos biocompósitos produzidos com diferentes quantidades de lignina incorporada de (a) 0%, (b) 10%, (c) 15% e (d) 20%.	129
Figura 26 - Curvas de inchamento em espessura e de absorção de água dos biocompósitos avaliados por imersão em água durante 30 minutos. (a) AL0 – sem adição de lignina, (b) AL10 – 10% de lignina, (c) AL15 – 15% de lignina, (d) AL20 – 20% de lignina.....	130
Figura 27 - Inchamento em espessura (a) e absorção de água dos biocompósitos avaliados por imersão em água durante 1, 2 e 3 horas (b). AL0 – sem adição de lignina, AL10 – 10% de lignina, AL15 – 15% de lignina, AL20 – 20% de lignina.	131

Figura 28 - Imagens de ângulos de contato em 0, 5, 10 e 10 s dos biocompósitos produzidos. AL0 – sem adição de lignina, AL10 – 10% de lignina, AL15 – 15% de lignina, AL20 – 20% de lignina.	133
Figura 29 - Imagens de MEV da superfície frontal do biocompósito sem adição de lignina (a) com ampliação de 100x, superfície frontal do biocompósito sem adição de lignina com ampliação de 400x (b), superfície frontal do biocompósito 10% de lignina com ampliação de 100x (c), superfície frontal do biocompósito 10% de lignina com ampliação de 400x (d), superfície frontal do biocompósito 15% de lignina com ampliação de 100x (e), superfície frontal do biocompósito 15% de lignina com ampliação de 400x (f), superfície frontal do biocompósito 20% de lignina com ampliação de 100x (g), superfície frontal do biocompósito 20% de lignina com ampliação de 400x (h).	135
Figura 30 - Espectros FTIR da biomassa “in natura” de cana-de-açúcar e dos biocompósitos formados. AL0 – sem adição de lignina, AL10 – 10% de lignina, AL15 – 15% de lignina, AL20 – 20% de lignina.	136
Figura 31 - Desempenho quanto a resistência à flexão dos biocompósitos gerados a diferentes pressões operacional (8, 24 e 40 MPa) e diferentes temperaturas (160, 180, 200°C). AL0 – sem adição de lignina, AL10 – 10% de lignina, AL15 – 15% de lignina, AL20 – 20% de lignina.	139
Figura 32 - Análise termogravimétrica (TGA) (a) e curvas de análise térmica diferencial (DTG) (b) da biomassa “in natura”, 0%AL, 10%AL, 15%AL e 20%AL. ...	140
Figura 33 - Fluxograma descritivo dos cenários propostos para integrar uma de biorrefinaria de cana-de-açúcar.....	144

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição aproximada típica de biomassas lignocelulósicas com potencial para geração de bioprodutos	26
Tabela 3 - Comparação de biocompósitos produzidos a partir de diferentes subprodutos agrícolas e florestais quanto as condições de produção e propriedades físicas e mecânicas.	63
Tabela 4 - Meios semi-definidos de cultivo empregados para fermentação das cepas de <i>R. toruloides</i>	70
Tabela 5 - Composição química da mistura (1:1) palha e bagaço de cana-de-açúcar e celulignina em estudo e referências	90
Tabela 6 - Composição do hidrolisado hemicelulósico da biomassa de cana-de-açúcar	91
Tabela 7 - Parâmetros fermentativos para cultivo em batelada de <i>R. toruloides</i> adaptada e não-adaptada em diferentes meios de cultivo após 96h de cultivo.	95
Tabela 8 - Análise comparativa dos parâmetros fermentativos das cepas de <i>R. toruloides</i> adaptada e não-adaptada em diferentes meios de cultivo após 96h de cultivo.	96
Tabela 9 - Composição química da biomassa de cana-de-açúcar e polpa celulósica em estudo e referências	116
Tabela 10 - Composição química da lignina alcalina recuperada da biomassa de cana-de-açúcar.	118
Tabela 11 - Picos atribuídos para RMN HSQC 2D	122
Tabela 12 - Semi-quantificação das subunidades de lignina alcallina e ligações interunitárias.....	124
Tabela 13 - Quantificação total do grupo hidroxila de amostras de lignina	124
Tabela 14 - Propriedades mecânica dos biocompósitos produzidos a partir da biomassa de cana-de-açúcar	138

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO	21
1.1 ESTRUTURA DA TESE	24
2.REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	25
2.1 BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA	25
2.2 DESAFIOS E OPORTUNIDADES NA VALORIZAÇÃO DE SUBPRODUTOS AGRÍCOLAS	27
2.3 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA	29
2.3.1 CELULOSE	29
2.3.2 HEMICELULOSE	30
2.3.3 LIGNINA	30
2.4 POTENCIAL DA CANA-DE-AÇÚCAR COMO FONTE DE BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA	32
2.5 VISÃO GERAL DAS BIORREFINARIAS DE BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA	35
2.6 PRÉ-TRATAMENTOS DE BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA	38
2.6.1 PRÉ-TRATAMENTO QUÍMICO	39
2.6.1.1 HIDRÓLISE ÁCIDA	39
2.6.1.2 HIDRÓLISE ALCALINA	40
2.7 HEMICELULOSE COMO FONTE DE AÇÚCARES FERMENTESCÍVEIS	42
2.8 COMPOSTOS INIBIDORES DA FERMENTAÇÃO	43
2.9 <i>Rhodospiridium toruloides</i> : CARACTERÍSTICAS E POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO	44
2.10 MECANISMOS DE FERMENTAÇÃO E ACUMULAÇÃO DE LIPÍDIOS	50
2.11 BIOCOMPÓSITOS DE BASE CELULÓSICA	52
2.12 EXPLORAÇÃO DE SUBPRODUTOS AGRÍCOLAS PARA PRODUÇÃO DE BIOCOMPÓSITOS	53
2.13 PROPRIEDADES DA LIGNINA E SEU USO COMO PLASTIFICANTE	55
2.14 CELULOSE: CARACTERÍSTICAS ESTRUTURAIS E APLICAÇÕES EM BIOCOMPÓSITO	57
2.15 ESTRATÉGIAS PARA PRODUÇÃO DE BIOCOMPÓSITOS SUSTENTÁVEIS	59

2.16 PROPRIEDADES E DESEMPENHO DE BIOCOMPÓSITOS NA SUBSTITUIÇÃO DE MATERIAIS CONVENCIONAIS	61
3 OBJETIVOS	64
3.1 GERAL	64
4. MATERIAL E MÉTODOS	65
PRIMEIRO CENÁRIO: FERMENTAÇÃO DE AÇÚCARES PRESENTES NA FRAÇÃO HEMICELULÓSICA VISANDO A PRODUÇÃO DE LIPÍDIOS POR CEPAS DE <i>Rhodospiridium toruloides</i>	65
4.1 BIOMASSA LIGNOCELULÓSICA DE CANA-DE-AÇÚCAR.....	65
4.2 TRATAMENTO COM ÁCIDO DILUÍDO DA BIOMASSA DE CANA-DE-AÇÚCAR	65
4.3 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DA BIOMASSA DE CANA-DE-AÇÚCAR	66
4.4 MICRO-ORGANISMOS E CONDIÇÕES DE CULTURA.....	67
4.4.1 MICRO-ORGANISMOS	67
4.4.2 CURVA PADRÃO E PRODUÇÃO DE BIOMASSA CELULAR	68
4.4.3 PREPARO DO INÓCULO.....	69
4.5 FERMENTAÇÃO DAS CEPAS OLEAGINOSAS EM MEIOS SEMI-DEFINIDO	69
4.6 CULTIVO DAS LEVEDURAS EM HIDROLISADO HEMICELULÓSICO DE BIOMASSA DE CANA-DE-AÇÚCAR	70
4.7 ADAPTAÇÃO DAS LEVEDURAS EM HIDROLISADO HEMICELULÓSICO NÃO-DESTOXIFICADO (HHC)	71
4.8 DETERMINAÇÃO DO CONTEÚDO DE ÓLEO MICROBIANO PRODUZIDOS PELAS CEPAS NÃO-ADAPTADAS E ADAPTADAS.....	72
4.9 MÉTODOS ANALÍTICOS	73
4.9.1 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO CELULAR.....	73
4.9.2 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE AÇÚCARES E ÁCIDO ACÉTICO.....	73
4.9.3 DETERMINAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS E DERIVADOS FURÂNICOS.....	74
4.9.4 DETERMINAÇÃO DE FENÓIS TOTAIS	74
4.9.5 DETERMINAÇÃO DOS PARÂMETROS FERMENTATIVOS PARA PROCESSOS DESCONTÍNUOS.....	75

4.9.5.1 CÁLCULO DO COEFICIENTE DO RENDIMENTO DE SUBSTRATO A LIPÍDIO (Y^P/S)	75
4.9.5.2 PRODUTIVIDADE VOLUMÉTRICA (Q_P).....	75
4.9.5.3 CÁLCULO DO COEFICIENTE DO RENDIMENTO DE SUBSTRATO A CÉLULAS (Y^X/S).....	76
4.9.5.4 TAXA DE CONSUMO DE AÇÚCAR (R_S)	76
4.9.5.5 TAXA DE CONSUMO DE ÁCIDO ACÉTICO (R_{AA}).....	77
4.9.5.6 PRODUTIVIDADE DE BIOMASSA CELULAR (Q_X).....	77
4.9.5.7 TAXA DE CRESCIMENTO (μ).....	77
SEGUNDO CENÁRIO: DESENVOLVIMENTO DE BIOCOMPÓSITOS À BASE DE CELULOSE-LIGNINA.....	78
4.10 MATÉRIA-PRIMA.....	78
4.11 PRÉ-TRATAMENTO ALCALINO (NaOH) DA BIOMASSA DE CANA-DE-AÇÚCAR	78
4.12 RECUPERAÇÃO DA LIGNINA	79
4.12.1 CARACTERIZAÇÃO DA LIGNINA	79
4.13 PROCESSO DE GERAÇÃO DOS BIOCOMPÓSITOS	81
4.14 CONDIÇÕES DE FORMAÇÃO DO BIOCOMPÓSITO DURANTE A PRENSAGEM A QUENTE	82
4.15 INCORPORAÇÃO DE LIGNINA NOS BIOCOMPÓSITO	83
4.16 CARACTERIZAÇÃO DOS BIOCOMPÓSITOS.....	84
4.16.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICA	85
4.16.1.1 DENSIDADE	85
4.16.1.2 RESISTÊNCIA À ÁGUA	85
4.16.1.3 MEDIÇÃO DO ÂNGULO DE CONTATO	86
4.16.1.4 MORFOLOGIA DE SUPERFÍCIE.....	86
4.16.2 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA.....	87
4.16.2.1 DETERMINAÇÃO DOS CARBOIDRATOS ESTRUTURAIS, LIGNINA E CINZAS	87
4.16.2.2 ESTUDO DOS GRUPOS FUNCIONAIS	87
4.16.2.3 PROPRIEDADES MECÂNICAS: MÓDULO DE ELASTICIDADE (MOE) E MÓDULO DE RUPTURA (MOR)	87
4.16.2.4 ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TGA-DTG)	88

5. RESULTADOS.....	89
PRIMEIRO CENÁRIO: FERMENTAÇÃO DE AÇÚCARES HEMICELULÓSICOS PARA PRODUÇÃO DE LIPÍDIOS POR <i>Rhodosporidium toruloides</i>.....	89
5.1 CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA E OBTENÇÃO DO HIDROLISADO APÓS TRATAMENTO COM ÁCIDO DILUÍDO	89
5.2 AVALIAÇÃO DO CONSUMO DE GLICOSE E XILOSE COMO FONTES DE CARBONO PARA PRODUÇÃO DE LIPÍDIOS POR CEPAS DE <i>R. toruloides</i>	93
5.2.1 AVALIAÇÃO DA ASSIMILAÇÃO DAS FONTES DE CARBONO E CRESCIMENTO CELULAR.....	93
5.2.1 AVALIAÇÃO DO ACÚMULO DE LIPÍDIOS	101
5.3 CULTIVOS EM HIDROLISADO HEMICELULÓSICO DE BIOMASSA DE CANA-DE-AÇÚCAR (HHC).....	103
5.3.1 AVALIAÇÃO DA ADAPTAÇÃO DAS CEPAS DE <i>R. toruloides</i>	103
5.3.2 FERMENTAÇÃO DAS CEPAS NÃO-ADAPTADAS E ADAPTADAS DE <i>R. toruloides</i> EM HHC	105
5.3.3 INIBIÇÃO E DEGRADAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS PELA LEVEDURA <i>R. toruloides</i>	110
5.3.4 ACÚMULO DE LIPÍDIOS POR CEPAS DE <i>R. toruloides</i> ADAPTADAS E NÃO-ADAPTADAS	112
SEGUNDO CENÁRIO: DESENVOLVIMENTO DE BIOCOMPÓSITOS À BASE DE CELULOSE-LIGNINA	115
5.4 CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA E OBTENÇÃO DA POLPA RICA EM CELULOSE APÓS TRATAMENTO ALCALINO	115
5.5 CARACTERIZAÇÃO DA LIGNINA RECUPERADA	117
5.5.1 COMPOSIÇÃO QUÍMICA.....	117
5.5.2 COMPORTAMENTO TÉRMICO DA LIGNINA.....	119
5.5.3 CARACTERÍSTICAS DA LIGNINA REVELADAS POR ANÁLISE DE RMN	120
5.5.4 GRUPOS HIDROXILA DETERMINADOS POR RMN DE 31P	124
5.6 AVALIAÇÃO DO EFEITO DA PRESSÃO E TEMPERATURA NOS BIOCOMPÓSITOS PRODUZIDOS.....	125
5.7 AVALIAÇÃO DO EFEITO DA ADIÇÃO DE LIGNINA NOS BIOCOMPÓSITOS	127
5.7.1 DENSIDADE E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS BIOCOMPÓSITOS	127

5.7.2 INCHAMENTO EM ESPESSURA E A ABSORÇÃO DE ÁGUA DOS BIOCOMPÓSITOS.....	129
5.7.3 CARACTERÍSTICA DE SUPERFÍCIE E RESISTÊNCIA À ÁGUA DOS BIOCOMPÓSITOS.....	132
5.7.4 MORFOLOGIA DE SUPERFÍCIE DOS BIOCOMPÓSITOS.....	134
5.7.3 CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DA ESTRUTURA DOS BIOCOMPÓSITOS POR FT-IR.....	136
5.7.6 PROPRIEDADES MECÂNICAS DOS BIOCOMPÓSITOS.....	137
5.5.7 ANÁLISE TÉRMICA DOS BIOCOMPÓSITOS	140
5.6 AVALIAÇÃO DOS CENÁRIOS PROPOSTOS	142
6.CONCLUSÕES	145
REFERÊNCIAS	147

1. INTRODUÇÃO

O uso de biomassa lignocelulósica como base para rotas biológicas de produção é uma estratégia promissora para obter bioprodutos de alto valor agregado e impulsionar a transição para uma economia menos dependente de fontes fósseis. Subprodutos agrícolas, amplamente gerados em cadeias produtivas globais, são uma matéria-prima abundante, acessível e que oferece vantagens para o desenvolvimento de processos sustentáveis.

Países de clima tropical, como o Brasil e a Austrália, destacam-se pela produção em larga escala de diversas culturas agrícolas, sendo ambos protagonistas no cenário global [1]. O Brasil é o maior produtor e processador mundial de cana-de-açúcar, enquanto a Austrália ocupa o décimo lugar nesse *ranking*, consolidando-se como um dos principais exportadores [2]. No caso do Brasil, a cana-de-açúcar é uma das culturas mais relevantes, com grande parte da produção sendo processada em usinas de açúcar e álcool. Desde a colheita até a moagem dos colmos, o processo gera expressivos volumes de biomassa lignocelulósica, principalmente na forma de palha, proveniente da colheita, e bagaço, resultante da moagem dos colmos [3].

Atualmente, esses subprodutos ricos em celulose, hemicelulose e lignina são majoritariamente utilizados como combustível em caldeiras nas usinas, para geração de calor e energia. Contudo, esse método apresenta desafios, como a combustão de baixa eficiência, a emissão de gases poluentes (CO , CO_2 , CH_4 , NO_x) e a geração de cinzas, o que demanda o desenvolvimento de alternativas mais sustentáveis e eficazes para o aproveitamento dessa biomassa [4]. Nesse contexto, estratégias para agregar valor a essas frações têm despertado grande interesse. O ponto de partida envolve o fracionamento da biomassa lignocelulósica, que pode ser realizado por meio de pré-tratamentos físicos, químicos ou biológicos. Entre esses, os pré-tratamentos químicos destacam-se pela alta eficiência e escalabilidade. A fração de celulose e hemicelulose, composta por açúcares monoméricos de cinco e seis carbonos, apresenta-se como uma matéria-prima atraente para processos fermentativos. Por exemplo, esses açúcares podem ser utilizados por diferentes micro-organismos para a produção de compostos de alto valor agregado como biocombustíveis (etanol e

butanol), ácidos orgânicos (lático, succínico, acético), biopolímeros (polihidroxialcanoato, celulose bacteriana) e aminoácidos e proteínas [5,6].

Leveduras do gênero *Rhodospiridium* são oleaginosas capazes de acumular grandes quantidades de lipídios. Elas se destacam por metabolizar eficientemente açúcares de cinco e seis carbonos e por sua adaptabilidade na presença de compostos inibidores gerados durante etapa de pré-tratamento da biomassa lignocelulósica [7]. Os lipídios produzidos por essas leveduras representam uma matéria-prima promissora para a produção de biocombustíveis renováveis, devido à semelhança de seus ácidos graxos com os encontrados em óleos vegetais [8]. Essa característica os torna uma alternativa viável, evitando a competição com óleos destinados à alimentação. Além disso, os lipídios especiais obtidos podem ser aplicados em diversos setores, como o alimentício, nutracêutico e cosmético. Embora nas últimas décadas a maioria dos estudos tenha se concentrado na exploração da glicose derivada da celulose em bioprocessos, a utilização de açúcares hemicelulósicos representa um desafio relevante e, ao mesmo tempo, uma oportunidade para a valorização de frações menos competitivas, contribuindo para uma bioeconomia mais sustentável e diversificada.

Outro desafio significativo na exploração da biomassa lignocelulósica é o aproveitamento dos compostos aromáticos e fenólicos presentes na lignina. Após o processo de deslignificação, o licor negro obtido frequentemente é subutilizado ou concentrado para uso em aplicações energéticas, aproveitando apenas seu poder calorífico. Nesse contexto, a valorização de resíduos ricos em lignina, pode trazer benefícios significativos, que consiste em uma abordagem promissora envolvendo a diversificação dos produtos gerados a partir das diferentes frações da biomassa, ampliando as possibilidades de aplicação. Concentrar a valorização em uma única fração limita o potencial dos processos, enquanto o desenvolvimento de estratégias integradas para explorar celulose, hemicelulose e lignina permite maximizar o aproveitamento da biomassa, impulsionando avanços tecnológicos e econômicos no setor [9].

A capacidade adesiva da lignina é uma característica cada vez mais explorada devido às suas propriedades químicas e estruturais, que permitem sua utilização em formulações adesivas, especialmente como substituto de resinas sintéticas. Essas resinas são amplamente aplicadas na produção de painéis de

partículas, utilizados em diversas áreas, como divisórias de escritório, painéis de revestimento, móveis não estruturais, entre outros. Um dos principais problemas associados aos painéis de partículas é a liberação gradual de formaldeído, um dos principais componentes dos adesivos sintéticos, que apresenta riscos à saúde humana e ao meio ambiente. Para enfrentar essa questão, o desenvolvimento de biocompósitos livres de formaldeído tem ganhado destaque, oferecendo alternativas mais seguras e sustentáveis. Nesse contexto, a lignina desponta como uma solução promissora, capaz de agregar valor aos processos produtivos enquanto minimiza os impactos ambientais.

O desenvolvimento de biocompósitos verdes e autoligantes, ou seja, sem a adição de adesivos sintéticos, representa uma área de pesquisa promissora e de grande relevância. Tradicionalmente, a produção desses biocompósitos utiliza subprodutos florestais combinados com resinas sintéticas, submetidos a processos de cura em altas temperaturas. No entanto, os derivados das madeiras florestais possuem uma ampla demanda para a fabricação de diversos produtos e apresentam um longo ciclo de cultivo, tornando sua disponibilidade limitada. Uma solução viável para superar esses desafios é a utilização de resíduos agrícolas, como os subprodutos da cana-de-açúcar, que oferecem uma alternativa sustentável como matéria-prima. Embora palhas e bagaços apresentem um teor de lignina inferior quando comparados aos subprodutos florestais — sendo a lignina um componente essencial para o desempenho mecânico dos biocompósitos —, é possível adotar estratégias para atender aos requisitos mínimos de qualidade e resistência exigidos para esses materiais. Essa abordagem não só promove a valorização de resíduos agrícolas como também contribui para a redução da dependência de recursos florestais, alinhando-se aos princípios da economia circular e da sustentabilidade.

Portanto, esta tese propõe dois cenários para a valorização da biomassa de cana-de-açúcar. O primeiro cenário foca na valorização dos açúcares hemicelulósicos obtidos após o tratamento químico com ácido diluído e o segundo cenário explora a valorização da celulose e lignina geradas a partir do processo de deslignificação alcalina.

1.1 Estrutura da tese

Esta tese é apresentada em formato clássico, conforme as diretrizes exigidas pela Instituição a norma ABNT NBR 14724. A estrutura do estudo é resumida na **Figura 1**.

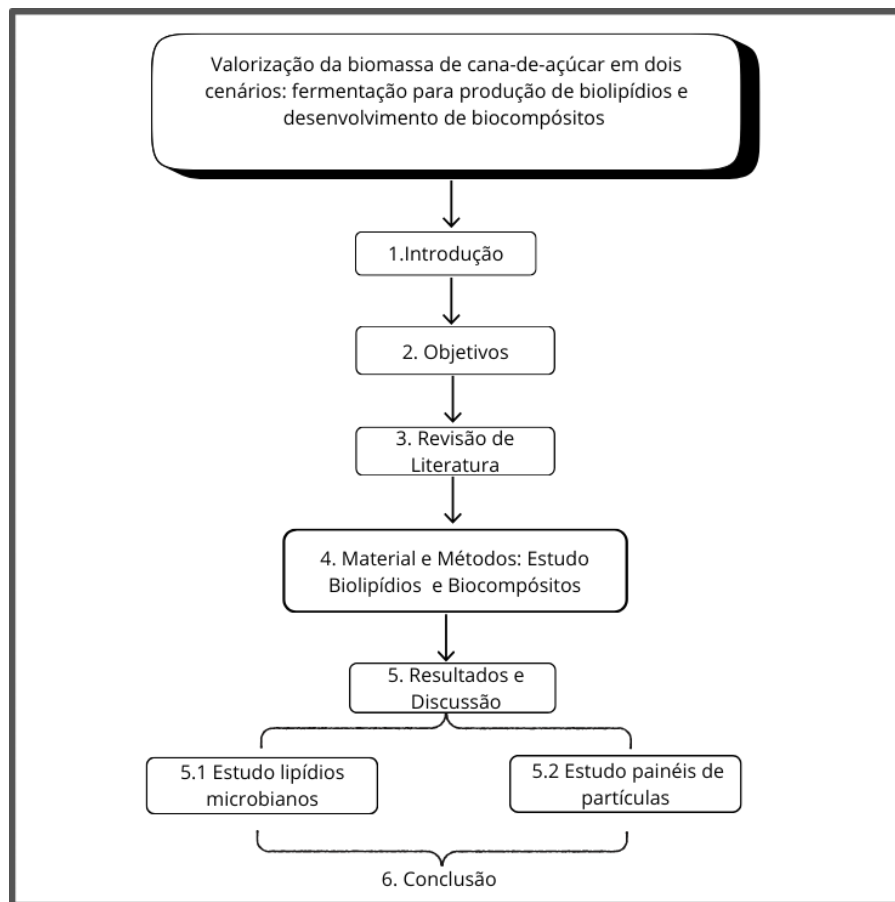


Figura 1 - Estrutura da Tese

Fonte: Elaborada pela Autora (2024).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Biomassa lignocelulósica

A biomassa lignocelulósica consiste em um recurso renovável vegetal não comestível composto majoritariamente por três componentes principais: celulose, hemicelulose e lignina, que compõe cerca de 90% da matéria seca [10], além de outros componentes em menor extensão como pectina, proteína, extrativos e componentes inorgânicos minerais, que somados formam a parede celular estrutural das plantas [11]. A fração de carboidratos composta pela celulose e hemicelulose geralmente varia de 70-80%, enquanto a fração aromática atribuída a lignina corresponde a 10-25% do peso seco da biomassa [12].

A composição da biomassa lignocelulósica varia significativamente dependendo de sua origem [13]. Fatores como espécie vegetal, estágio de crescimento, idade, condições de cultivo, características do solo e localização geográfica [14] desempenham papéis determinantes nessa variação. Tais fatores afetam o potencial de utilização da biomassa como matéria-prima em biorrefinarias. A **Tabela 1** apresenta as composições típicas de biomassas lignocelulósicas frequentemente utilizadas na produção de materiais de base biológica. As faixas de análises imediatas destacam dados relatados por diferentes estudos, evidenciando as possibilidades de agregar valor a esses subprodutos.

O material lignocelulósico é proveniente principalmente de resíduos florestais e agrícolas, com uma estimativa global de produção anual em torno de 200×10^9 toneladas [12]. Entretanto, estima-se que menos de 10% desse volume seja efetivamente aproveitado, o que evidencia seu grande potencial como uma matéria-prima sustentável e amplamente disponível. Além disso, os materiais lignocelulósicos apresentam um custo relativamente baixo quando comparados a outras matérias-primas, como aquelas baseadas em açúcares e amidos [15].

Tabela 1 - Composição aproximada típica de biomassas lignocelulósicas com potencial para geração de bioprodutos

Biomassa lignocelulósica	Celulose (%)	Hemicelulose (%)	Lignina Total (%)	Cinzas (%)	Referência
Talo de milho	27,92	34,05	16,1	6,36	[16]
Espiga de milho	35,20	45,67	6,84	-	[17]
Bagaço de cana-de-açúcar	36,01	29,94	21,38	1,75	[18]
Palha de cana-de-açúcar	39,83	25,25	23,57	10,90	[19]
Bambu	56,06	14,61	24,53	-	[20]
Palha de arroz	32,33	37,66	20,12	-	[21]
Casca de arroz	39,12	17,56	22,43	13,56	[22]
Palha de trigo	36,40	26,10	22,10	-	[23]
Casca de soja	42,10	24,80	3,45	5,02	[24]
Palha de cevada	42,50	26,60	18,26	2,60	[25]
Resíduos de poda (<i>Olea europaea</i>)	36,60	22,30	25,50	0,90	[26]
Serragem de madeira	49,93	18,26	29,20	-	[27]

Fonte: Elaborada pela Autora (2024).

Ao longo dos anos, a forma de utilização da biomassa lignocelulósica passou por uma transformação significativa. Historicamente, esse material era queimado em campo como uma prática comum para limpar a terra [28]. No entanto, devido à emissão de gases poluentes para a atmosfera, essa atividade foi gradualmente proibida em diversos países. No Brasil essas proibições se deram de forma gradativa a partir do ano 2000 [20,21]. Posteriormente, a queima desses resíduos foi direcionada para caldeiras industriais, permitindo o aproveitamento do calor gerado na combustão para a produção de energia, promovendo uma utilização mais controlada e eficiente [31].

O potencial da biomassa lignocelulósica foi reconhecido, e seus monômeros constituintes passaram a ser explorados, especialmente para a produção de biocombustíveis, como bioetanol, biogás e biodiesel, que se destacam como alternativas sustentáveis aos combustíveis fósseis [23,24].

Atualmente, o estudo e a utilização da biomassa lignocelulósica vão muito além da produção de biocombustíveis, expandindo-se rapidamente devido à crescente preocupação com a redução das reservas de petróleo e os impactos ambientais negativos associados à sua exploração. Nesse contexto, processos termoquímicos, químicos e bioquímicos têm sido amplamente empregados para a obtenção de precursores químicos, bioplásticos e materiais avançados [34], [35]. Esses materiais incluem sistemas de armazenamento de energia e nanocristais de celulose, com aplicações promissoras em áreas como sensores inteligentes e multifuncionais [36].

Embora alguns desses processos ainda não tenham maturidade tecnológica para comercialização, se mostram como alternativas promissoras que impulsionam a bioeconomia e contribuem para a redução dos impactos ambientais e problemas de gerenciamento associado ao volume de material lignocelulósico gerado [37]. A primeira etapa para a valorização dessa biomassa consiste na desconstrução da matriz lignocelulósica para obter seus monômeros constituintes.

2.2 Desafios e oportunidades na valorização de subprodutos agrícolas

A valorização de subprodutos agrícolas é uma estratégia essencial para promover a economia circular e a sustentabilidade em diversos setores produtivos. Esses materiais lignocelulósicos, frequentemente subaproveitados ou descartados, representam uma fonte abundante de carboidratos e compostos aromáticos que podem ser convertidos em produtos de alto valor agregado [38].

Apesar do grande potencial, a implementação da valorização de subprodutos agrícolas enfrenta desafios significativos. Um deles é a composição heterogênea da biomassa lignocelulósica, que pode variar até mesmo dentro de uma mesma espécie, afetando sua consistência como matéria-prima [39]. Além disso, a logística e o armazenamento desses materiais apresentam dificuldades, devido ao elevado volume, à necessidade de transporte para locais de processamento, além dos riscos de deterioração e incêndios associados ao armazenamento prolongado. Outro desafio crítico é a recalcitrância da biomassa lignocelulósica, resultante da organização tridimensional de seus componentes estruturais, o que dificulta o fracionamento e a conversão eficiente das frações,

limitando o aproveitamento integral dessa matéria-prima [31,32]. A viabilidade econômica representa um desafio crítico, pois os processos de valorização devem alcançar escalabilidade e redução de custos para competir com materiais derivados de fontes fósseis. Além disso, os impactos ambientais decorrentes da geração de efluentes durante os processos de conversão exigem tratamento adequado, o que pode aumentar os custos operacionais. Por fim, existem limitações tecnológicas que necessitam ser superadas, demandando o desenvolvimento de métodos mais eficientes para converter subprodutos lignocelulósicos em materiais de maior valor agregado [33,34]. Esses desafios destacam a importância de esforços conjuntos em pesquisa e inovação para tornar viável, tanto economicamente quanto ambientalmente, o aproveitamento sustentável desses materiais.

As oportunidades de valorização dos subprodutos agroindustriais estão principalmente relacionadas à ampla disponibilidade desses materiais nas cadeias de processamento agroindustrial e ao seu baixo custo em comparação com outras matérias-primas. Além disso, a utilização desses resíduos contribui para o desenvolvimento da bioeconomia circular, promovendo processos que minimizam desperdícios e reduzem os impactos ambientais [30,24]. Esses processos geram bioprodutos de alto valor agregado, frequentemente beneficiados por incentivos governamentais e fiscais devido à sua origem renovável, o que estimula a transição para uma economia mais sustentável [35,36]. O aproveitamento desses materiais também contribui para o gerenciamento eficiente de resíduos, oferecendo uma alternativa ao descarte inadequado ou à queima, práticas com impactos ambientais negativos. Além disso, a integração desses processos às biorrefinarias já existentes pode potencializar a eficiência no uso de recursos. Assim, a valorização dos subprodutos agroindustriais apresenta não apenas oportunidades de avanço em pesquisa e inovação tecnológica, mas também importantes aplicações industriais.

2.3 Composição química da biomassa lignocelulósica

2.3.1 Celulose

A celulose é o biopolímero mais abundante na Terra, composta por unidades de β -D-glucopirranose unidas por ligações β -1,4 glicosídicas, formando o dissacarídeo celobiose, que se repete para formar longas cadeias não ramificadas (**Figura 2**) [46]. Durante a síntese da parede celular das plantas, essas cadeias macromoleculares se organizam de maneira a formar regiões cristalinas e amorfas, que se combinam para formar microfibrilas interconectadas por ligações de hidrogênio e forças de van der Waals [11].

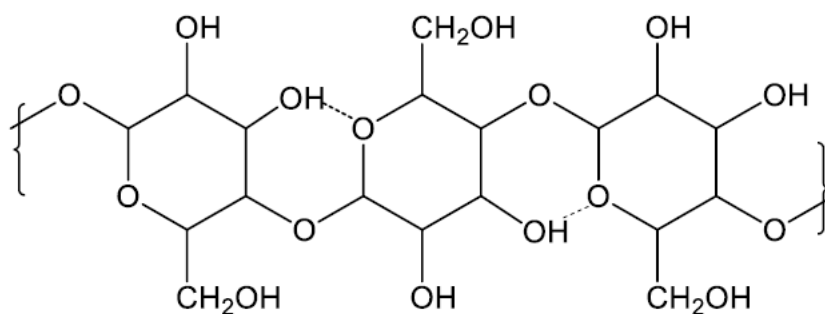


Figura 2 - Representação da estrutura de celulose

Fonte: Elaborada pela Autora (2024).

Na região cristalina, a conformação linear da celulose permite sua organização em fibrilas, nas quais as cadeias se alinham paralelamente, formando uma estrutura ordenada. Isso ocorre por meio de ligações de hidrogênio intermoleculares e intramoleculares, que conectam as cadeias paralelas de celulose [12]. Em contrapartida, a região amorfa resulta da desorganização dessas cadeias e da presença de interações mais fracas.

A variação natural na organização das macromoléculas de celulose, bem como nas proporções entre as regiões cristalina e amorfa, afeta diretamente a eficiência da degradação da matriz lignocelulósica [46]. O alto grau de polimerização da celulose confere-lhe baixa flexibilidade e, principalmente, a característica de ser insolúvel em água e na maioria dos solventes.

2.3.2 Hemicelulose

A hemicelulose é um polissacarídeo amorfo, altamente ramificado e heterogêneo, composto por heteropolímeros formados, geralmente, por dois ou mais tipos de monômeros, como xilana, galactomanana, arabinoxilana e xiloglucana [47]. Sua estrutura também pode conter grupos funcionais como acetil, metil, ácido glucurônico, galacturônico e cinâmico [3,37]. Os monômeros que a compõem incluem pentoses (L-arabinose, D-xilose) e hexoses (D-glicose, D-manose, D-galactose) (**Figura 3**). Nas gramíneas e nas folhosas, a xilose é o monômero predominante, enquanto nas coníferas, a manose predomina [48].

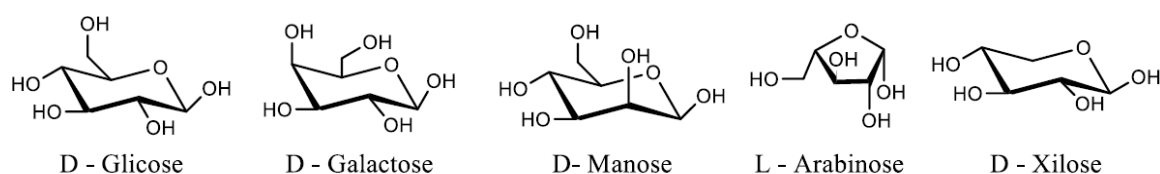


Figura 3 - Hexoses e pentoses comumente encontradas na hemicelulose

Fonte: Elaborada pela Autora (2024).

Acredita-se que a hemicelulose se ligue à celulose de forma não covalente na superfície das fibrilas [49]. Sua natureza amorfa e o menor grau de polimerização tornam-na mais facilmente hidrolisável em comparação à celulose, especialmente em condições ácidas. No entanto, essa característica representa um desafio para a sua desconstrução e aproveitamento eficiente [50].

2.3.3 Lignina

A lignina, o segundo biopolímero mais abundante na Terra, é um polímero aromático tridimensional formado pela síntese de até três monômeros de álcool: coniferílico, sinapílico e p-cumárilico (**Figura 4**). Uma vez incorporadas, essas subunidades, identificadas por sua estrutura de anel aromático, são chamadas de unidades guaiacil (G), siringil (S) e p-hidroxifenil (H) [11]. A presença e o teor dessas subunidades são variáveis entre as espécies e irá impactar no processo de deslignificação.

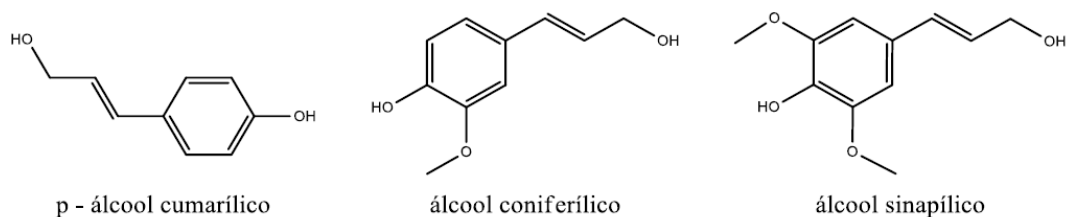


Figura 4 – Principais unidades formadoras encontradas na lignina

Fonte: Elaborada pela Autora (2024).

A lignina não possui uma estrutura definida e não pode ser isolada em seu estado nativo, o que dificulta a compreensão completa de sua estrutura exata. Por essa razão, ainda não se tem um entendimento total sobre a lignina em sua forma nativa. No entanto, diversas características de sua estrutura foram descritas com base em estudos espectroscópicos [42,43]. Análises composicionais indicam que cerca de 50% de sua estrutura é formada por anéis aromáticos, com os polímeros unidos por diferentes tipos de ligações. Entre 50% e 80% dessas ligações são do tipo β -O-4, responsáveis pelo alongamento linear do polímero [49]. Também são encontradas ligações β -5, β - β , e α -O-4, além de ligações em menor abundância, como C-O e C-C. A organização complexa da estrutura polimérica da lignina dificulta sua despolimerização por métodos de pré-tratamento, tanto químicos quanto biológicos, sendo necessário o uso de diversas abordagens para obter alta conversão a baixo custo [53].

A lignina está intimamente associada às fibras de celulose e hemicelulose por meio de ligações covalentes e não covalentes, éter benzílico, glicosídico, éster benzílico e acetal [54], funcionando como uma "cola" que impermeabiliza essas cadeias poliméricas, conferindo rigidez e proteção contra ataques biológicos e físicos. Essa associação resulta em uma rede tridimensional heterogênea [3,46]. A recalcitrância atribuída à estrutura da lignina representa um dos principais desafios na etapa de desconstrução da biomassa lignocelulósica. Isso ocorre porque as subunidades formadas durante as etapas de pré-tratamento podem inibir enzimas, sendo reconhecidas como fontes de compostos que prejudicam o processo fermentativo, além de dificultarem o acesso à celulose e à hemicelulose [47,48]. Esses fatores aumentam os custos do fracionamento da biomassa, exigem maiores cargas enzimáticas e apresentam desafios na reciclagem dessas enzimas.

Em relação ao aproveitamento da lignina, sua estrutura aromática e fenólica impede sua participação em processos fermentativos, mas possibilita a produção de produtos químicos de interesse industrial, polímeros e fibras de carbono [58]. A versatilidade da lignina, capaz de gerar uma ampla gama de produtos, torna-a uma opção competitiva em comparação com a refinaria de petróleo convencional. Assim, a viabilização do seu aproveitamento em biorrefinarias, por meio de novas rotas que conduzam à produção de produtos de alto valor agregado, surge como uma estratégia promissora, já que seu uso atual está majoritariamente restrito à queima [59].

2.4 Potencial da cana-de-açúcar como fonte de biomassa lignocelulósica

Países com economias baseadas principalmente na agroindústria processam grandes volumes de culturas agrícolas, gerando toneladas de subprodutos durante o cultivo e processamento, como a palha e o bagaço da cana-de-açúcar. Uma parte significativa desses materiais é descartada por meio de queima ou deposição em aterros, práticas que não apenas desperdiçam seu potencial, mas também contribuem para a poluição ambiental. A cana-de-açúcar é uma das culturas agrícolas mais cultivadas no mundo, com uma produção global anual superior a 1,8 bilhão de toneladas [60]. Países de clima tropical e subtropical, como Brasil, Índia, China e Austrália, destacam-se como grandes produtores dessa cultura [52,53]. Além disso, a cana-de-açúcar é considerada uma cultura comercial estratégica devido à produção de commodities como açúcar e etanol, que desempenham um papel significativo na economia de diversas nações [63]. O Brasil, líder mundial na indústria canavieira, alcançou uma produção de aproximadamente 678,66 milhões de toneladas na safra 2024/25 [64].

O beneficiamento da cana-de-açúcar inicia-se com a colheita, atualmente predominantemente mecanizada [65]. Após a colheita, a cana é transportada para as usinas, onde passa por processos de trituração e moagem, reduzindo-a a partículas menores para facilitar a extração do caldo rico em açúcares. Este caldo é aquecido e clarificado para a remoção de impurezas, tornando-se apto às etapas subsequentes de concentração, cristalização e secagem, como ilustrado na **Figura 5** [63]. Embora o açúcar e álcool seja o principal produto

visado no processamento dos colmos, diversas frações secundárias são geradas durante o processo, incluindo palha, bagaço, lama de prensagem e melaço [66].

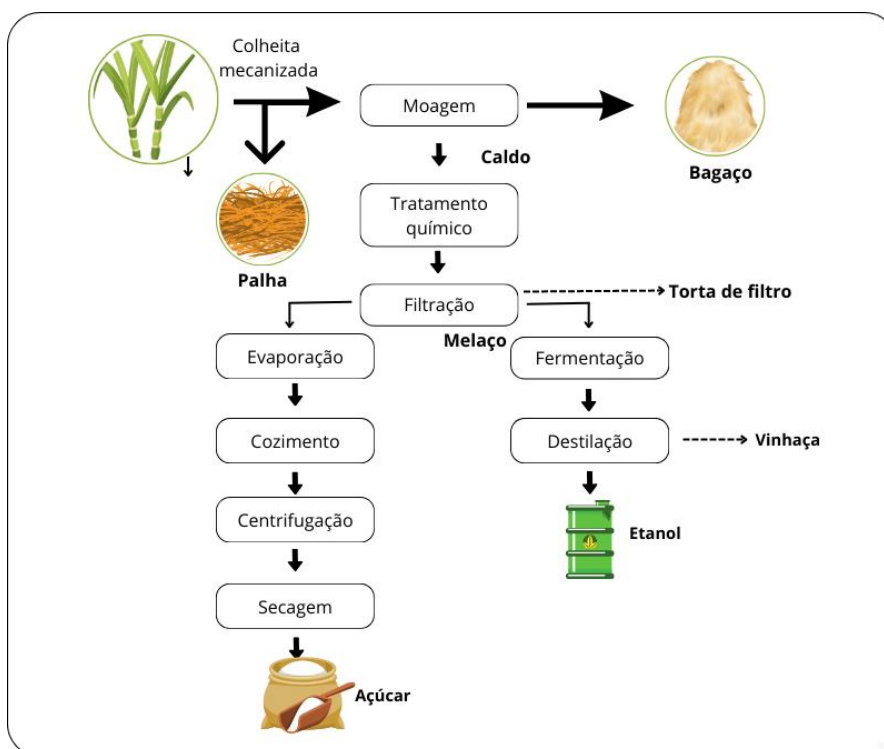


Figura 5 - Principais etapas do processamento da cana-de-açúcar

Fonte: Elaborada pela Autora (2024).

O bagaço e a palha são os principais subprodutos lignocelulósicos gerados durante a colheita e o processamento da cana-de-açúcar para a produção de açúcar e etanol de primeira geração. Aproximadamente 27% da cana processada transforma-se em bagaço, proveniente da moagem dos colmos nas usinas. Além disso, com o aumento da mecanização agrícola na colheita, cerca de 14% corresponde à geração de palha, que pode ser deixada no campo ou coletada e armazenada em pilhas nas usinas [67]. Juntos, bagaço e palha representam quase metade do conteúdo energético total da cana-de-açúcar [68]. A grande quantidade de palha e bagaço gerados apresenta desafios relacionados à gestão de sua disposição e ao uso eficiente desses materiais. No entanto, também representa uma oportunidade para converter subprodutos lignocelulósicos, tradicionalmente de baixo valor e amplamente disponíveis, em produtos sustentáveis de base biológica [68]. Atualmente, o potencial energético e químico desses subprodutos é subaproveitado pelas indústrias

sucroenergéticas, sendo seu uso predominantemente voltado à cogeração de calor e energia. Nesse processo, o bagaço é, em sua maior parte, queimado em caldeiras para gerar vapor, que é convertido em energia e utilizado em diferentes etapas dentro da planta industrial [53,54].

Um dos principais desafios no uso de subprodutos lignocelulósicos, como palha e bagaço, para geração de energia é o excedente de bagaço produzido, que em muitos casos supera a demanda energética da planta industrial [69], resultando no desperdício de mais de 50% desse material. Além disso, o armazenamento de palha e bagaço nas usinas apresenta problemas como geração de poeira, necessidade de grandes áreas de estocagem e aumento do risco de incêndios. Como solução, esses materiais são frequentemente queimados de forma ineficiente em caldeiras, o que, embora resolva parcialmente o problema de gerenciamento, gera cinzas de baixo valor agregado. Essas cinzas, por sua vez, acarretam custos adicionais para sua disposição adequada, representando um desafio econômico e ambiental para a indústria [4].

Considerando a composição química semelhante da palha e do bagaço de cana-de-açúcar, ambos ricos em carboidratos e componentes aromáticos (**Tabela 1**), esses materiais apresentam elevado potencial para serem convertidos em produtos de alto valor agregado com aplicações diversificadas. Além disso, a geração simultânea desses subprodutos em grandes quantidades no mesmo processo industrial facilita sua utilização conjunta na produção de bioprodutos. Exemplos notáveis incluem biocombustíveis, bioquímicos, *biochar*, materiais à base de fibras celulósicas e biocompósitos, obtidos por meio de métodos químicos, biológicos ou térmicos. Pesquisas têm se concentrado no desenvolvimento de novas rotas de conversão para transformar esses resíduos em produtos de maior valor agregado, como furfural, [70], xilitol [71] e etanol [72]. A ampla disponibilidade e o fácil acesso a esses subprodutos tornam-nos uma matéria-prima altamente atrativa para aplicações em larga escala. A integração de processos de conversão desses materiais nas plantas sucroalcooleiras tradicionais está alinhada ao conceito de bioeconomia circular, promovendo o desenvolvimento de produtos renováveis de alto valor agregado. Essa abordagem não apenas fortalece o conceito de biorrefinaria, mas também

prioriza o uso eficiente e sustentável dos recursos, maximizando o potencial econômico e ambiental dos subprodutos lignocelulósicos.

2.5 Visão geral das biorrefinarias de biomassa lignocelulósica

As refinarias de biomassa lignocelulósica podem ser consideradas análogas às refinarias de petróleo, que se consolidaram ao longo do século XX como instalações industriais voltadas ao processamento do petróleo bruto em uma ampla gama de *commodities* valiosas, como combustíveis, lubrificantes, precursores químicos, adesivos, entre outros [43]. No caso das refinarias de biomassa, essa abordagem ganhou destaque no início do século XXI, com foco no processamento de matérias-primas renováveis para a produção de uma diversidade de produtos e moléculas de alto valor. Utilizando diferentes técnicas, essas refinarias aproveitam componentes lignocelulósicos para gerar biocombustíveis, bioquímicos e materiais sustentáveis, reforçando sua relevância em um contexto de transição para uma economia mais circular e de baixo carbono [10]. O National Renewable Energy Laboratory (NREL), localizado no Colorado, EUA, define biorrefinaria como o "processamento sustentável de biomassa em um espectro de produtos comercializáveis e energia". Para viabilizar essa abordagem, é essencial a integração entre processos e equipamentos, permitindo o fracionamento eficiente da biomassa ou seu uso direto na produção de produtos de base biológica, como químicos, biomateriais, energia e fibras. Essa interconexão é fundamental para maximizar o aproveitamento dos recursos disponíveis e promover uma produção sustentável. [73].

O conceito de biorrefinaria está intimamente ligado aos princípios da economia circular, que visam maximizar o uso eficiente das matérias-primas e minimizar a geração de resíduos. Essa integração promove a valorização sustentável da biomassa por meio de práticas fundamentadas nos pilares de redução, reuso e reciclagem. Assim, as biorrefinarias não apenas impulsionam uma utilização mais sustentável dos recursos, mas também desempenham um papel crucial na transição para um modelo de produção mais responsável e ambientalmente consciente [74]. Esse processo ocorre por meio da utilização em cascata dos subprodutos lignocelulósicos [75], promovendo o fechamento do

ciclo de materiais, em contraste com o modelo de economia linear. Para otimizar o aproveitamento da biomassa e da energia nela contida, as biorrefinarias empregam diversas rotas de conversão, que incluem métodos bioquímicos, microbiológicos, químicos e termoquímicos. Essas abordagens possibilitam a produção de uma ampla gama de bioprodutos e fontes de energia renovável [10].

As matérias-primas utilizadas nas biorrefinarias podem ser de origem primária ou secundária, e classificadas como alimentares ou não alimentares [76]. As matérias-primas de primeira geração são amplamente utilizadas na produção de biocombustíveis, enquanto as de segunda geração ainda estão em fase de desenvolvimento e avaliação técnico-econômica. Fatores como a composição do material e a complexidade da estrutura lignocelulósica desempenham um papel crucial na viabilidade comercial dos processos associados a essas biorrefinarias [39]. As biorrefinarias de primeira geração concentram-se na utilização de matérias-primas de padrão alimentar como sorgo, beterraba, cana-de-açúcar, soja, trigo e milho, onde a extração dos açúcares é feita através de etapas de moagem, compressão, extração a base de água, dentre outros [77]. A partir desse substrato rico em açúcares, estes são posteriormente convertidos através de métodos biológicos ou químicos, resultando na produção de combustíveis como etanol, butanol e produtos de plataformas químicas [39]. Entretanto, surgiram preocupações em relação à utilização de matérias-primas nas biorrefinarias de primeira geração, especialmente devido ao seu impacto na segurança alimentar e na competição com alimentos. Em resposta, passou-se a explorar o uso de subprodutos não comestíveis, como resíduos florestais, agroindustriais, municipais e agrícolas, nas chamadas biorrefinarias de segunda geração [33]. Essa abordagem busca aproveitar materiais anteriormente descartados ou subutilizados, promovendo uma alternativa mais sustentável e alinhada aos princípios da economia circular. Apesar das vantagens ao utilizar estes componentes, os processos catalíticos para sua valorização oferecem diversos desafios, além de serem intensos em energia e tempo de processamento.

Em resumo, uma biorrefinaria de segunda geração fundamenta-se na despolimerização das frações de carboidratos e componentes aromáticos presentes na estrutura da biomassa lignocelulósica. Após essa etapa, os constituintes resultantes são convertidos em bioprodutos de alto valor agregado

por meio de processos de conversão química e/ou biológica. Para alcançar o fracionamento completo da biomassa lignocelulósica, são necessárias etapas de pré-tratamento (**Figura 6**). Após a obtenção dos monômeros constituintes, a valorização pode ser realizada por meio de fermentação, no caso dos açúcares, ou por processos de conversão e melhoria química aplicados aos componentes aromáticos [3,2].

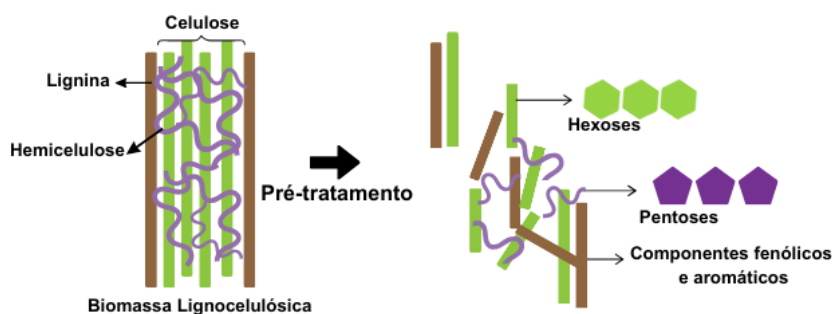


Figura 6 - Efeito da etapa de pré-tratamento na estrutura da biomassa lignocelulósica

Fonte: Elaborada pela Autora (2025).

Podem ser gerados mais de duzentos produtos químicos de valor agregado derivados da biomassa lignocelulósica – celulose, hemicelulose e lignina, a partir de diversas técnicas de valorização [39]. Dessa forma, a valorização dos componentes da biomassa (**Figura 7**) lignocelulósica em um espectro de produtos é uma abordagem lucrativa em que a exploração da lignina faz se necessário para aumentar a economia da biorrefinaria [40].

A biomassa pode ser gerada por diversos setores, como agricultura, silvicultura, aquicultura, indústrias e residências, o que a torna uma matéria-prima abundante. No entanto, apresenta baixa densidade energética e sazonalidade. Por isso, é essencial adotar processos estratégicos para valorizar todos os componentes desses materiais. Fatores como o pré-tratamento, a composição e a disponibilidade da biomassa desempenham um papel fundamental na viabilidade da biorrefinaria. Por exemplo, subprodutos da silvicultura geralmente apresentam maior teor de lignina (>20%) quando comparados a resíduos de colheita, como casca de arroz e bagaço de cana-de-açúcar. Nestes casos, a etapa de pré-tratamento precisa ser mais severa, o que resulta em maior gasto energético e tempo de processamento [14].

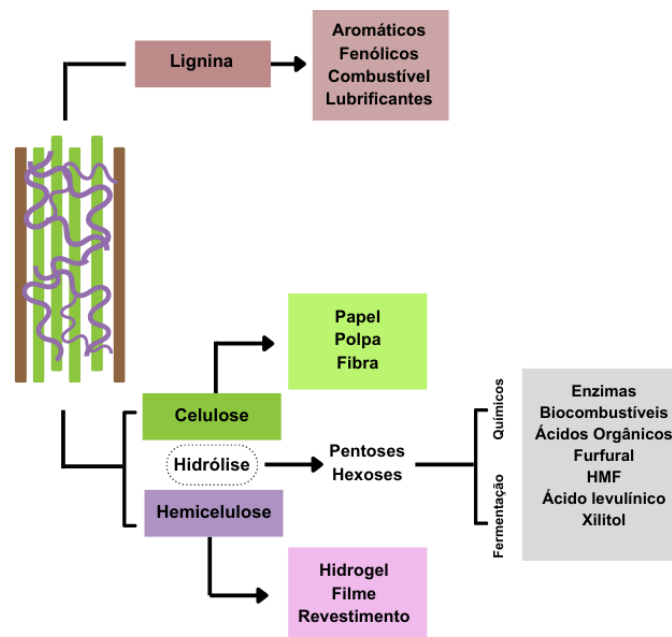


Figura 7 - Exemplos de bioprodutos gerados a partir da biomassa lignocelulósica

Fonte: Elaborada pela Autora (2024).

As seções seguintes irão destacar com mais detalhes as rotas de despolimerização da biomassa lignocelulósica através de etapa de pré-tratamento com ácido diluído e alcalino, visando a exploração das pentoses obtidas no hidrolisado hemicelulósico e a polpa celulósica e lignina obtidos no pré-tratamento alcalino.

2.6 Pré-tratamentos de biomassa lignocelulósica

Visando o fracionamento da biomassa lignocelulósica, tratamentos físicos, químicos e biológicos são empregados geralmente de forma combinada. O uso de etapas em sequência visa reduzir a perda de componentes estruturais e a obtenção de diferentes correntes de subprodutos que podem ser empregados na produção e conversão de produtos de alto valor. Cada abordagem é responsável por causar efeitos específicos nas frações constituintes de celulose, hemicelulose e lignina [78]. A escolha do tipo de pré-tratamento e as condições de operação devem ser cuidadosamente avaliadas, pois influenciam diretamente as etapas subsequentes do processo, como hidrólise e fermentação [65,47]. Essa avaliação é crucial, pois o pré-tratamento afeta aspectos essenciais, como a digestibilidade da matriz lignocelulósica, a

formação de compostos que podem ser tóxicos para os micro-organismos e a eficiência das operações de recuperação e purificação. Assim, a escolha e otimização do pré-tratamento é essencial para garantir a viabilidade técnica e econômica do bioprocessamento.

Algumas técnicas tradicionais de pré-tratamento são explosão a vapor, ácido diluído, deslignificação alcalina, organosolv e com uso de amônia [79]. A seguir, serão discutidas duas das principais etapas de pré-tratamento químico amplamente utilizadas no fracionamento da biomassa lignocelulósica: o pré-tratamento com ácido diluído e o alcalino.

2.6.1 Pré-tratamento Químico

Os pré-tratamentos químicos visam principalmente modificar a estrutura cristalina da celulose, ao mesmo tempo em que removem as frações de hemicelulose e lignina da matriz lignocelulósica. Para isso, são utilizados agentes químicos como ácidos, bases, solventes e compostos oxidantes. Além de serem viáveis em escala industrial, os métodos de pré-tratamento químico são eficazes no aumento da área de superfície da biomassa, o que favorece o sucesso na digestão da lignocelulose [72,73].

2.6.1.1 Hidrólise ácida

O pré-tratamento com ácido é uma técnica consolidada entre as diversas abordagens de pré-tratamento, tendo como objetivo a clivagem das ligações glicosídicas na matriz lignocelulósica. Esse processo solubiliza principalmente a fração hemicelulósica, além de parte da lignina, tornando a celulose mais acessível aos ataques enzimáticos [56]. O pré-tratamento pode ser realizado com ácidos concentrados ou diluídos, sendo que o uso de ácido concentrado é menos atrativo em bioprocessos, devido à formação de compostos de degradação que podem inibir o processo fermentativo [73]. Além disso, o uso de ácido concentrado pode causar problemas como corrosão de equipamentos e dificuldades na recuperação do ácido [82]. Por essas razões, o ácido diluído é mais comumente empregado tanto em escala laboratorial quanto comercial, oferecendo vantagens em relação ao ácido concentrado.

Dessa forma, a escolha dos parâmetros utilizados no pré-tratamento com ácido diluído é de grande importância para garantir a eficiência do processo e remoção da hemicelulose [70]. Por exemplo, a utilização de altas temperaturas podem levar ao maior consumo de energia, problemas de corrosão, geração de compostos inibitórios e perda de açúcares. Sendo assim, quando utilizadas temperaturas elevadas (180-200°C) são empregados um curto período de reação (15-30 minutos). Por outro lado, em temperaturas mais baixas (140-160°C) são empregados maior tempo de reação (30-120 minutos) [82].

As principais variáveis de processo avaliadas no pré-tratamento com ácido incluem tempo de reação, temperatura, relação sólido/líquido e concentração de ácido. Essas variáveis são ajustadas para otimizar o rendimento de açúcares no hidrolisado hemicelulósico e minimizar a formação de compostos potencialmente inibidores. Altos rendimentos de hidrólise têm sido obtidos com o uso de ácido sulfúrico diluído, que se destaca como o ácido mais investigado nesse contexto. Por exemplo, Yildirim *et al.* (2022) [83] investigaram as melhores condições de pré-tratamento para biomassa de oliveira visando a produção de bio-hidrogênio. Utilizando a técnica de superfície resposta, os autores determinaram que as condições ótimas eram 78 minutos a 102,5°C e uma concentração de ácido sulfúrico de 0,6% (v/v), resultando na obtenção de 37 g.L⁻¹ de açúcares redutores totais (ART). Em um estudo de Kärcher *et al.* (2015) [84] os autores compararam o desempenho de gramíneas (*Miscanthus × giganteus*) e palha de trigo em um pré-tratamento com ácido sulfúrico. A hidrólise da hemicelulose da palha de trigo apresentou um rendimento de 96,2% em açúcares, utilizando 140°C, 1,13% de H₂SO₄ por 10 minutos. Para a gramínea, o rendimento foi ligeiramente inferior, com 89,9% de conversão, utilizando 150°C e 1,44% de H₂SO₄ pelo mesmo tempo de 10 minutos.

Outros ácidos também são mencionados em estudos, como ácido clorídrico [85], ácido fosfórico [86], ácido nítrico [87] além de ácidos orgânicos, como o ácido oxálico [88] e o ácido maléico [89].

2.6.1.2 Hidrólise Alcalina

O pré-tratamento alcalino visa à remoção seletiva da lignina, com a consequente liberação de uma pequena quantidade de hemicelulose. Esse

processo torna a fração celulósica mais acessível para a etapa de sacarificação enzimática [41], ao reduzir a cristalinidade da celulose e aumentar a porosidade e a área de superfície da biomassa, efeitos resultantes da remoção intensiva da lignina [47,43]. Este é um processo tradicionalmente utilizado na indústria de papel e celulose para o fracionamento dos componentes lignocelulósicos. Seu objetivo principal é obter uma polpa rica em celulose, gerando lignina e hemicelulose como subprodutos do processamento [90].

Os agentes de deslignificação comumente utilizados são hidróxido de potássio, hidróxido de sódio e amônia [91]. O processo alcalino clássico é o processo Kraft, que envolve a digestão da biomassa em uma solução de sulfeto de sódio (Na_2S) e hidróxido de sódio (NaOH) em concentrações de 15-20%. Esse processo resulta no isolamento das fibras de celulose e na formação de um líquido denominado licor negro [92]. Este licor é composto por frações orgânica e inorgânica: a fração orgânica contém fragmentos de celulose, hemicelulose e lignina, enquanto a fração inorgânica provém dos produtos químicos usados no pré-tratamento, sendo que parte desses produtos pode ser reciclada ao final do processo [93].

Devido a maturidade industrial e o amplo emprego do processo Kraft, toneladas de licor negro são gerados anualmente [94]. No entanto, o aproveitamento dessa fração líquida limita-se a concentração e queima para recuperação de químicos e geração de energia térmica. Uma das razões para isso se dá devido ao processo Kraft destruir as cadeias de lignina, impossibilitando a obtenção de químicos e moléculas derivadas de interesse [95].

Um outro processo de hidrólise alcalina com importância industrial é o processo de polpação sulfito, que se baseia no uso dos íons HSO_3^- e SO_3^{2-} que resultará na sulfonação, degradação e solubilização da lignina. Além disso, há o processo soda, geralmente empregado na polpação de resíduos de colheita [93]. Nesse método, a deslignificação ocorre pelo uso de hidróxido de sódio (NaOH), podendo ser associado à antroquinona, um catalisador que aumenta a seletividade de remoção da lignina.

2.7 Hemicelulose como fonte de açúcares fermentescíveis

À medida que as indústrias buscam formas mais ecológicas de produzir produtos químicos, a rota biotecnológica através da assimilação da xilose emerge como uma via potencial de base biológica. Através da assimilação da xilose por micro-organismos, que pode ser convertida principalmente em xilitol, ácido succínico, ácido láctico, entre outros [85].

Os açúcares presentes na celulose e na hemicelulose, na forma de polissacarídeos, representam mais de 60% da composição da maioria das biomassas, sendo o restante, em grande parte, composto por lignina, uma macromolécula polifenólica [96]. Contudo, a maioria dos bioprocessos utiliza a glicose como matéria-prima, o que direciona o foco para a desconstrução da fração celulósica. Por outro lado, açúcares alternativos, como xilose, arabinose, manose e galactose, surgem como opções atraentes, promovendo o aproveitamento da fração hemicelulósica e possibilitando o estabelecimento de uma biorrefinaria que explore diferentes frações da biomassa [89-91].

A xilose tem atraído mais atenção em comparação a outros açúcares alternativos porque é o açúcar primário presente na porção hemicelulósica de vários materiais lignocelulósicos [99]. Para utilizar a xilose como fonte de carbono em processos fermentativos, são necessárias leveduras com uma rota metabólica mais flexível. Isso ocorre porque a xilose é um açúcar de cinco carbonos, exigindo que seja canalizada pela via das pentoses fosfatos (PPP). A PPP pode converter a xilose em intermediários importantes, como a xilulose-5-fosfato, integrando-se perfeitamente à glicólise ou outras vias metabólicas centrais. Utilizar vias alternativas para fermentação de xilose pode resultar em eficiência reduzida em comparação à via glicolítica altamente otimizada projetada para glicose [93-95]. A xilose pode ser convertida em compostos químicos mais valiosos por meio da transformação quimocatalisadora ou intervenção biotecnológica.

A xilose pode ser transformada, por meio de uma rota quimocatalisadora, em uma ampla variedade de produtos, incluindo furfural, álcool furfurílico, xilitol, ácido levulínico, éster levulínico, ácido xilárico, 2-metilfurano e outros intermediários [1]. Contudo, com a crescente busca por métodos mais sustentáveis de produção de produtos químicos, a rota biotecnológica baseada

na assimilação de xilose por meio do caminho das pentoses (PPP) tem se destacado como uma alternativa promissora. Nesse processo, micro-organismos podem converter a xilose principalmente em xilitol, ácido succínico, ácido láctico, entre outros compostos [102].

A utilização de hidrolisados de biomassa como substrato apresenta vantagens econômicas ao reduzir os custos do bioprocesso. No entanto, a presença de compostos de degradação constitui um desafio significativo durante a fermentação, afetando o desempenho de diversos micro-organismos. Esse problema decorre do fato de que os pré-tratamentos químicos da biomassa são processos inespecíficos, resultando na formação de uma variedade de subprodutos químicos indesejáveis. O pré-tratamento com ácido diluído, por exemplo, é amplamente utilizado como etapa inicial, pois permite a solubilização de uma grande fração hemicelulósica da biomassa, mantendo a celulose cristalina intacta. Esse método é reconhecido por sua eficiência e viabilidade econômica [98-100]. No entanto, está associado à liberação de compostos que podem inibir o crescimento microbiano. Para contornar esse obstáculo, diversos estudos têm explorado etapas de destoxificação, demonstrando melhorias significativas nos bioprocessos fermentativos após a remoção parcial desses inibidores [101-103].

2.8 Compostos inibidores da fermentação

Estes compostos de inibição podem ser divididos em três grupos: ácidos alifáticos de cadeia curta, compostos fenólicos e derivados furânicos [107]. O ácido acético é o ácido mais abundante encontrado em hidrolisados hemicelulósicos, sendo formado pela hidrólise das frações acetil presentes na hemicelulose durante os tratamentos ácidos da biomassa. Entre os derivados furânicos mais comuns estão o furfural e o hidroximetilfurfural (5-HMF), gerados pela desidratação de pentoses e hexoses em condições ácidas, respectivamente. Esses compostos podem ser submetidos a etapas subsequentes de degradação, resultando na formação de ácidos fórmico e levulínico, respectivamente [108]. A lignina, macromolécula polifenólica, corresponde ao maior grupo de compostos inibidores gerados durante o pré-tratamento da biomassa. Devido à sua estrutura complexa, a degradação da

lignina resulta na formação de uma variedade de compostos, incluindo ácidos, álcoois e aldeídos. Esses compostos são derivados dos três principais álcoois fenólicos que compõem as frações da lignina: trans-coniferílico, trans-sinapílico e p-cumarílico. Entre os produtos formados, destacam-se os ácidos benzóico, p-cumárico e ferúlico, além dos aldeídos siringaldeído, vanilina e 4-hidroxibenzaldeído [106,107].

A compreensão detalhada do comportamento desses compostos de degradação e de sua ação sinérgica em processos fermentativos ainda é limitada. Em situações em que esses compostos estão presentes, torna-se necessário o uso de micro-organismos mais robustos ou a aplicação de estratégias de destoxificação do meio [108-110]. Os diferentes mecanismos de toxicidade associados a esses inibidores podem levar ao prolongamento da fase *lag*, redução no acúmulo de produto e, eventualmente, na morte desses micro-organismos [113].

2.9 *Rhodospiridium toruloides*: características e potencial biotecnológico

Recentemente, tem-se observado um crescente interesse na utilização de linhagens não convencionais de leveduras para a conversão de xilose em produtos de maior valor agregado. Nesse contexto, as leveduras oleaginosas emergem como micro-organismos promissores para a produção de ácidos graxos [114].

Atualmente, os micro-organismos oleaginosos têm atraído grande atenção devido à sua capacidade de acumular grandes quantidades de lipídios [8]. O lipídio microbiano produzido por esses micro-organismos é uma fonte atraente para a produção de biocombustíveis renováveis, devido à semelhança de seus ácidos graxos com os óleos vegetais e, em alguns casos, com as gorduras de origem animal [114,115]. Os ácidos graxos com melhor influência nas propriedades do biodiesel produzido são ácido oleico, ácido palmítico e o ácido linoleico.

A utilização de lipídios produzidos por microrganismos traz como vantagem não competir com os óleos alimentícios. Além disso, o óleo microbiano produzido é um bioproduto versátil, com potencial para a produção de bioquímicos e biomateriais. Esse óleo pode ser precursor para uma ampla gama

de produtos. Além disso, os óleos microbianos podem ser ajustados, através de meio de cultura, substrato, pH, temperatura, entre outros para ter composições específicas de ácidos graxos, tornando-os adequados para diversas aplicações, como alimentos, produtos farmacêuticos e cosméticos. A diversificação das aplicações desses lipídios é essencial para tornar o processo de produção microbiana de lipídios economicamente viável [116-118]. Por exemplo, Navazes-Pazos *et al.* (2024) [119] realizaram ensaios de fermentação com linhagens de *R. toruloides* com ácidos graxos voláteis como fonte de carbono. Os autores relataram um perfil lipídico composto principalmente por ácido oleico, ácido palmítico e ácido linoleico, que são adequados para produção de biodiesel. Outro exemplo é o trabalho de Xue *et al.* (2024) [120] que realizaram a utilização de substrato lignocelulósico para produção de lipídios utilizando uma cepa de *R. toruloides* C23. Os ácidos graxos predominantes incluíram ácido oleico, ácido palmítico, ácido esteárico e ácido linoleico, representando mais de 90% do conteúdo lipídico.

No entanto, adaptar a produção para atingir níveis mais elevados de ácidos graxos específicos e otimizar o processo de recuperação subsequente são desafios importantes na produção de lipídios microbianos. Isso envolve, principalmente, estratégias de engenharia genética voltadas para as vias de alongamento e dessaturação [102]. Contudo, devido às limitações nas estratégias de engenharia genética e na disponibilidade de elementos genéticos para cepas oleaginosas menos estudadas, a aplicação desses métodos é restrita. Assim, estudos focados em diferentes condições de cultivo, como razão C/N, temperatura, pH, aeração, fontes de nitrogênio e carbono, proporcionarão informações valiosas para desenvolver estratégias de personalização das composições de ácidos graxos [119,120].

Os óleos microbianos podem ser produzidos a partir de recursos renováveis e apresentam uma pegada de carbono menor em comparação com óleos vegetais ou fósseis. Esses micro-organismos podem ser cultivados independentemente das condições climáticas e sem a necessidade de grandes extensões de terra, o que torna a produção de óleos microbianos uma alternativa mais ecologicamente sustentável [123]. Embora micro-organismos como microalgas, fungos e bactérias tenham a capacidade de acumular lipídios, essas espécies enfrentam desafios como baixa capacidade de acúmulo, inibição por

altas concentrações de substrato e repressão catabólica, o que torna o processo mais desafiador [122,123]. O cultivo autotrófico de microalgas para a produção de óleo microbiano enfrenta desafios significativos, como variações diárias e sazonais na intensidade luminosa, baixas taxas de crescimento, concentração limitada de biomassa e dificuldades de escalabilidade. No cultivo heterotrófico, as microalgas têm menor competitividade em relação a processos envolvendo leveduras e fungos filamentosos, devido à sua gama restrita de fontes de carbono e taxas de crescimento relativamente lentas [115]. Em contrapartida, o cultivo de leveduras oferece várias vantagens, como o controle facilitado do suprimento de oxigênio e a eficiência na transferência de massa, graças à sua estrutura unicelular. Essas características fisiológicas e biotecnológicas notáveis posicionam as leveduras como foco em estudos recentes voltados para a produção de derivados oleoquímicos valiosos [126]. Algumas cepas são capazes ainda de crescer em hidrolisados hemicelulósicos e celulósicos na presença de compostos de degradação da biomassa, embora, em alguns casos, com desempenho inferior em comparação aos meios livres desses compostos [57,125,126]. Um bom exemplo é o trabalho de Osorio-González, *et al.* (2019) [117] no qual os pesquisadores demonstraram que cepas de *Rhodospiridium toruloides* foram capazes de crescer em hidrolisado de biomassa lignocelulósica, utilizando açúcares de cinco e seis carbonos. Além disso, essas cepas apresentaram tolerância a intermediários do processo de fracionamento da biomassa, como ácido levulínico, 5-HMF, furfural, siringaldeído, ácido ferúlico e ácido hidroxibenzóico.

Embora a destoxificação de hidrolisados lignocelulósicos seja uma solução promissora para melhorar o processo fermentativo, a adição dessa etapa implica em uma operação adicional, resultando em custos extras para o bioprocessamento. Portanto, é fundamental desenvolver estratégias eficazes para reduzir os efeitos negativos associados à presença de compostos inibidores provenientes das etapas de pré-tratamento, sem gerar custos adicionais e sem comprometer o desempenho das leveduras, tornando o bioprocessamento mais econômico e atraente [129].

Uma estratégia eficaz para superar esse obstáculo é a adaptação prévia das células, que consiste na pré-exposição do micro-organismo a concentrações subletais dos compostos tóxicos presentes no hidrolisado. Gradualmente, e por

meio da capacidade inata do micro-organismo, se adapta ao meio de fermentação, com a pressão seletiva do ambiente e o desenvolvimento de um aparato metabólico, resultante em uma série de mutações espontâneas [108,110,111]. Um exemplo disso é o estudo de Park *et al.* (2023) [130], que investigaram a produção de lipídios por cepas de *Rhodospiridium toruloides* em hidrolisado hemicelulósico de palha de arroz. Devido à presença de compostos inibidores para a fermentação, os autores realizaram uma adaptação prévia do micro-organismo, estratégia também empregada neste trabalho. Após 16 ciclos de subcultura, a cepa adaptada demonstrou resistência ao furfural e 5-HMF presentes no hidrolisado, apresentando crescimento 2,5 vezes superior ao da cepa não adaptada e acúmulo de 54% de lipídios.

O processo de adaptação permite a seleção de micro-organismos mais robustos. Em alguns casos, além da tolerância microbiana aos inibidores presentes nos hidrolisados, observa-se uma capacidade metabólica de converter esses produtos de degradação em compostos menos tóxicos ou até mesmo utilizá-los como fonte de carbono através do metabolismo central, fornecendo uma alternativa de energia à célula. Por exemplo, os derivados furânicos podem ser oxidados a ácido 2-furóico, enquanto o siringaldeído e a vanilina podem ser transformados em siringato e ácido vanílico, respectivamente [113]. Resultados semelhantes foram observados por Osorio-González *et al.* (2022) [131], que investigaram a degradação de furfural em hidrolisado de biomassa, utilizando cepas de *Rhodospiridium toruloides*, e observaram uma redução de 90,7% do composto em 96 horas de fermentação. Outro exemplo é o estudo de Almeida *et al.* (2023) [132], que selecionaram cepas adaptadas de *Papiliotrema laurentii* com maior tolerância ao ácido acético em concentrações crescentes deste composto. Sha *et al.* (2023) [133] desenvolveram uma linhagem de *Yarrowia lipolytica* com maior tolerância a compostos aromáticos, enquanto Park *et al.* (2023) [130] selecionaram uma cepa de *Rhodospiridium toruloides* que demonstrou maior resistência aos furanoaldeídos, importantes produtos de degradação encontrados em hidrolisados lignocelulósicos.

Embora o processo de adaptação ofereça vantagens em relação à cepa não-adaptada quando cultivada em hidrolisados de biomassa, esse meio ainda não atende a todas as exigências nutricionais dos micro-organismos. Por isso, é necessária a suplementação com nutrientes essenciais para o desenvolvimento

celular, os quais são fundamentais para a realização de qualquer reação de fermentação [129,130].

Tabela 2 – Análise comparativa da produção de lipídios por diferentes cepas de leveduras oleaginosas a partir de diferentes meios de cultivo

Cepa de levedura oleaginosa	Fonte de carbono	Meio de crescimento	Razão C:N	Biomassa final (g.L)	Conteúdo lipídico (% bs)	Referência
<i>Rhodospiridium toruloides</i> CBS 14	xilose 39,4 g.L ⁻¹	meio de cultivo quimicamente definido	75:1	11,1	47,05	[136]
<i>Rhodospiridium toruloides</i> CBS 14	glicose 40,8 g.L ⁻¹	meio de cultivo quimicamente definido	75:1	13,8	47,51	[136]
<i>Rhodospiridium toruloides</i> ATCC 204091	20 g.L ⁻¹ açúcares totais (48,55% de glicose, 30,9% de xilose e 20,4% de glicerol)	Resíduos vegetais (cascas de laranja, limão doce, banana, manga, vagens de ervilha e tocos de couve-flor/repolho)	30:1	18	74,5	[137]
<i>Rhodotorula glutinis</i>	40 g.L ⁻¹ glicose	Águas residuais de glutamato monossódico (MSG)	N.I	25	20	[138]
<i>Rhodospiridium toruloides</i> NRRL Y-1091	25 g.L ⁻¹ glicose	meio de cultivo quimicamente definido	25:1	3,90	6,16	[139]
<i>Rhodospiridium toruloides</i> NRRL Y-1091	25 g.L ⁻¹ xilose	meio de cultivo quimicamente definido	25:1	2,85	2,63	[139]
<i>Rhodospiridium toruloides</i> NRRL Y-1091	23,89 g.L ⁻¹ xilose, 4,10 g.L glicose,	Hidrolisado hemicelulósicode palha de trigo destoxificado	N.I	10,73	9,44	[139]
<i>Rhodospiridium toruloides</i> 0126-16	103 g.L ⁻¹ de açúcares totais (61 g.L ⁻¹ de glicose, 42 g.L ⁻¹ de xilose)	Hidrolisado hemicelulósicode palha de trigo	N.I	6,6	54,4	[140]
<i>Rhodospiridium toruloides</i> -1588	37,5 g.L ⁻¹ de glicose, 2,5 g.L ⁻¹ de xilose	Hidrolisado celulósico de madeira	70:1	15,3	34	[141]
<i>Rhodospiridium toruloides</i> -1588	25g.L ⁻¹ glicose, 25g.L ⁻¹ xilose.	Hidrolisado celulósico e hemicelulósico de resíduos florestais (<i>Populus</i> sp.) (1:1)	70	13,33	38,85	[142]
<i>Rhodospiridium toruloides</i> CCT 7815	12,19 g.L ⁻¹ xilose	Hidrolisado hemicelulósico de eucalipto	100	6,52	26,42	[126]
<i>Rhodospiridium toruloides</i> NRRL Y-1091	24,76 g.L ⁻¹ de xilose, 4,72 g.L ⁻¹ glicose	Hidrolisado de hemicelulósico de palha de trigo concentrado 2 vezes e destoxificado	N.I	10,73	9,44	[139]

N.I: não informado.

Fonte: Elaborada pela Autora (2025).

2.10 Mecanismos de fermentação e acumulação de lipídios

Os principais benefícios da produção de óleo microbiano por meios biotecnológicos incluem sua independência de variações sazonais e climáticas, a capacidade de manter condições de produção controladas e os ciclos de crescimento mais curtos, que oferecem vantagens significativas em relação às fontes vegetais. No entanto, até o momento, a pesquisa sobre a aplicação de técnicas de adaptação em hidrolisados hemicelulósicos para identificar cepas de leveduras oleaginosas mais robustas para a produção de óleo microbiano é limitada, o que se associa diretamente a variabilidade dos hidrolisados que podem ser obtidos e a necessidade da otimização dos parâmetros de cultivo.

Nos casos de leveduras oleaginosas, os parâmetros nutricionais têm um impacto direto no acúmulo de lipídios, onde a limitação de nitrogênio é a maneira mais comum de aumentar o teor de óleo em leveduras oleaginosas [92,124]. Isso ocorre porque a biossíntese lipídica é favorecida em um meio com excesso de carbono, enquanto a presença de um nutriente limitante (como fósforo ou nitrogênio) restringe a biossíntese de proteínas e ácidos nucleicos. Como resultado, as células não conseguem utilizar toda a fonte de carbono disponível para a formação de biomassa celular. Em vez disso, o metabolismo é desviado, e o excesso de substrato é assimilado e convertido em lipídios intracelulares [138,132,139]. A **Figura 8** apresenta as vias metabólicas envolvidas na produção de óleo microbiano. O piruvato, produto final da glicólise e da via de utilização das pentoses, é transportado para a mitocôndria. Na mitocôndria, o complexo enzimático de piruvato-desidrogenase catalisa a conversão do piruvato em acetil-CoA, um precursor essencial para a biossíntese de ácidos graxos, que ocorre no citosol. Como a membrana mitocondrial é impermeável à acetil-CoA, este composto é convertido em citrato para ser transportado para o citosol. Em condições de limitação de nitrogênio, a enzima adenosina monofosfato (AMP)-desaminase é ativada, promovendo a clivagem do AMP e resultando na formação de inosina monofosfato (IMP) e íons NH_4^+ , que suprem a demanda celular por nitrogênio. A depleção de AMP interrompe o ciclo de Krebs na etapa de isocitrato. Nesse contexto, a enzima ATP-citrato liase, presente exclusivamente em micro-organismos oleaginosos [145], catalisa a conversão de citrato em acetil-CoA e oxaloacetato no citosol. Esse processo aumenta a

concentração de acetil-CoA disponível no citosol, favorecendo a biossíntese de ácidos graxos. Para a síntese de ácidos graxos, são indispensáveis o NADPH e o malonil-CoA para o alongamento das cadeias. O NADPH é gerado pela descarboxilação do malato, catalisada pela enzima málica, enquanto o malonil-CoA é formado a partir da acetil-CoA pela ação da enzima acetil-CoA carboxilase. Com esses precursores disponíveis, a síntese de ácido palmítico ocorre por meio de reações catalisadas por um complexo multienzimático, utilizando acetil-CoA, malonil-CoA e NADPH.

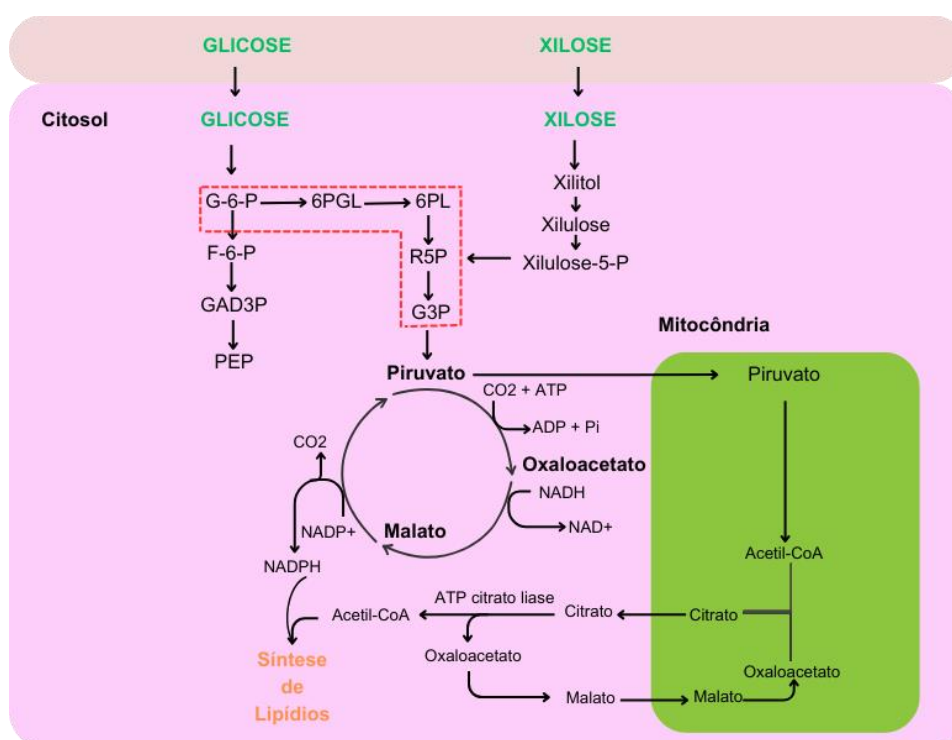


Figura 8 - Fluxo de citrato e malato como fontes de acetil-CoA e NADPH para a lipogênese em leveduras oleaginosas.

G-6-P: Glicose-6-fosfato; 6PGL: 6-Fosfoglucono- δ -lactona; 6-PL: 6-Fosfogluconato; R5P: Ribose-5-fosfato; G3P: Gliceraldeído-3-fosfato; Xilulose-5P: Xilulose-5-fosfato; NADP⁺: Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato – oxidado; NADPH: Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato - reduzido; ATP: Adenosina Trifosfato; Acetil-CoA: Acetil Coenzima A.

Fonte: Adaptado de Spagnuolo *et al.* 2019 [97] e Ageitos *et al.* 2011 [145].

Dessa forma, estabelecer o balanço ideal entre carbono e nitrogênio (C:N) é fundamental. Quando a disponibilidade de carbono é baixa, as cepas começam a gerar células, priorizando esse processo em detrimento do acúmulo de lipídios.

Assim, a estratégia de C:N deve ser combinada com a adição de microelementos, como Mg^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , Cu^{2+} e Ca^{2+} , além de sais inorgânicos, para otimizar o acúmulo lipídico [140,141].

2.11 Biocompósitos de base celulósica

Os painéis de partículas tradicionais são produzidos a partir de partículas de madeira, como lascas, aparas, serragem, ou outros materiais lignocelulósicos, unidos por um adesivo polimérico. Esses componentes passam por um processo de cura sob condições específicas de temperatura e pressão [147]. Esses materiais apresentam ampla aplicabilidade, incluindo a fabricação de móveis, itens de decoração, embalagens, revestimentos e maquetes [148].

A principal matéria-prima utilizada na produção de painéis de partículas são as aparas de madeira geradas durante o desbaste florestal e os resíduos do processamento da madeira [147]. Embora suas propriedades mecânicas sejam inferiores às da madeira sólida, esses painéis podem ser aprimorados para atingir a qualidade desejada por meio de ajustes nas condições operacionais de produção e no uso de resinas, que atuam como adesivos no material. Entre os produtos à base de madeira, os painéis de partículas representam o principal item disponível no mercado global, com uma demanda crescente [75].

Madeiras de reflorestamento têm sido amplamente utilizadas na produção comercial de painéis de partículas. Contudo, nos últimos anos, o cenário de aproveitamento de recursos madeireiros tem mudado, com maior ênfase em aplicações de maior valor agregado [51]. Essa mudança, aliada à crescente demanda por madeira e à pressão para reduzir a dependência desse recurso, tem gerado desafios para a indústria de painéis de partículas. Esses desafios se agravam pelo longo tempo necessário para a maturação de espécies como pinus e eucalipto, que pode chegar a 15 anos até a colheita, dificultando o suprimento adequado de matéria-prima [142,144].

A busca por matérias-primas alternativas para substituir os subprodutos da madeira tornou-se essencial para atender à crescente demanda do setor. A utilização de matérias-primas alternativa oferece vantagens significativas, como a redução de custos de produção e, em muitos casos, a diminuição da emissão de compostos nocivos tanto no produto final quanto nas etapas do processo

produtivo. Por exemplo, as indústrias de painéis de partículas e compensados enfrentam pressões para reduzir a dependência de derivados da madeira e as emissões tóxicas de formaldeído provenientes de adesivos à base de petróleo. Essas mudanças têm como objetivo tornar o processo mais ambientalmente amigável, além de melhorar a reciclabilidade do produto, já que os materiais tradicionais frequentemente limitam as opções de descarte e reaproveitamento dos resíduos gerados durante a produção [150]. Nesse contexto, subprodutos lignocelulósicos de origem agrícola apresentam-se como uma matéria-prima promissora para a fabricação de painéis de partículas, desde que os produtos obtidos atendam aos requisitos estabelecidos pelas normas técnicas aplicáveis.

2.12 Exploração de subprodutos agrícolas para produção de biocompósitos

Diversos estudos na literatura relatam o uso de subprodutos agrícolas na produção de biocompósitos, destacando a utilização de diferentes partes da planta, como caules, folhas, palhas, cascas, frutos e sementes [147]. Um biocompósito pode ser definido como um material composto de uma matriz de biopolímero reforçada com fibras naturais ou compostos adesivos. Geralmente, combina componentes biológicos e sintéticos para melhorar as propriedades mecânicas, térmicas e ambientais [151].

Além do benefício ambiental associado ao aproveitamento de subprodutos agrícolas que, de outra forma, seriam descartados, essas matérias-primas oferecem vantagens econômicas significativas. A utilização de biomassa agrícola reduz os custos de produção dos biocompósitos, considerando que a matéria-prima representa entre 30% e 40% do custo total do processo. Em comparação, aparas de madeira são, em média, 50% mais caras que a biomassa agrícola, o que torna o uso de subprodutos agrícolas uma alternativa mais acessível. Essa abordagem resulta em uma redução geral nos custos de produção, ao mesmo tempo em que promove benefícios ambientais e sociais [149].

Entretanto, um dos gargalos associado ao uso de subprodutos agrícolas para a produção de biocompósito é geralmente o seu menor teor de celulose quando comparado com subprodutos derivados da madeira [11]. A organização

estrutural dos polímeros de celulose é crucial para garantir propriedades mecânicas adequadas ao material. Além disso, o alto teor de componentes extrativos nos subprodutos agrícolas deve ser considerado, pois, durante a prensagem, esses compostos podem volatilizar, liberando gases que prejudicam a adesão entre as fibras. Para alcançar as propriedades físicas e mecânicas desejadas, torna-se essencial realizar uma etapa de modificação estrutural, como o pré-tratamento seletivo, visando a remoção de componentes não celulósicos, incluindo extrativos e parte da lignina [152]. A remoção parcial da lignina e da hemicelulose aumenta a porosidade e reduz a rigidez do material, favorecendo o processo de densificação. No entanto, uma remoção insuficiente de lignina pode comprometer a prensagem a quente, resultando em painéis de partículas com maior presença de espaços vazios. Por outro lado, a remoção excessiva de lignina, que desempenha um papel crucial como agente ligante, pode tornar o material excessivamente frágil [153].

Estudos anteriores frequentemente combinam tratamento químico e densificação a alta temperatura para produzir biocompósitos com maior rigidez e resistência [148,149] desenvolveram um biocompósito livre de adesivos a partir de partículas de bambu, utilizando deslignificação parcial ($\text{NaOH}/\text{Na}_2\text{SO}_3$) seguida de prensagem a quente em duas etapas: 80°C, 1 MPa por 12 horas, e 140°C, 50 MPa por 90 minutos. O material obtido apresentou alta resistência à flexão (162 MPa), superando o bambu natural. O tratamento químico foi eficaz para ajustar a quantidade de lignina e liberar as microfibras de celulose, que, durante a prensagem a quente, foram infiltradas pela lignina, resultando em uma estrutura densa e de bom desempenho.

Como o biocompósito gerado é livre de formaldeído e outras substâncias nocivas à saúde humana, seu leque de aplicações se amplia, permitindo seu uso em áreas que exigem altos padrões de proteção ambiental. Exemplos incluem aplicações em ambientes internos, como separadores de escritório, tetos e paredes, portas de correr, decoração de interiores e outros produtos manufaturados [150,151].

2.13 Propriedades da lignina e seu uso como plastificante

A lignina consiste na fonte de polímeros fenólicos naturais mais abundante no planeta responsável pela rigidez e integridade das plantas [51]. A lignina é rica em grupos funcionais, como hidroxila, carboxila e aldeído, o que desperta interesse para a exploração desse recurso, principalmente com base em seus componentes [51]. A maioria da lignina disponível é obtida como resíduo durante o processo de polpação para produção de papel, mas é encontrada em todas as plantas [158]. Enquanto a celulose é amplamente utilizada na produção de papel, as aplicações da lignina ainda são bastante limitadas, apesar de sua ampla disponibilidade. Um dos principais campos de valorização da lignina é sua utilização como ligante, devido a sua estrutura aromática tridimensional complexa confere aos produtos à base de lignina propriedades de grande interesse, como resistência mecânica, durabilidade, retardamento de chama por meio da formação de carvão e resistência à degradação ultravioleta [159]. O aproveitamento das propriedades adesivas da lignina é uma tecnologia que começou a ser explorada na década de 1990 [160]. No entanto, naquela época, os estudos focavam na formulação combinada com fenol-formaldeído, que, além de não ser renovável, é caro, de processamento complexo e consome muita energia [51].

Embora os painéis de partículas tradicionais utilizem grandes quantidades de subprodutos do beneficiamento da madeira, esses materiais são, na maioria das vezes, considerados resíduos devido ao tamanho das partículas, o que impede sua absorção em setores tradicionais, como na produção de móveis, componentes estruturais ou de isolamento. Um dos principais problemas do processo industrial está no uso de resinas tóxicas à base de formaldeído, que, além de melhorar as propriedades mecânicas dos compósitos, resulta na liberação de formaldeído livre [161]. O formaldeído foi classificado como um carcinógeno humano pela Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC) e representa um risco significativo ao meio ambiente, causando danos a trabalhadores e consumidores desses painéis de partículas [150]. O uso de adesivos à base de formaldeído responde por 95% das resinas utilizadas na produção desses painéis [162], incluindo fenol-formaldeído (PF), ureia-formaldeído (UF) e melamina-ureia-formaldeído (MUF). Essas resinas são

amplamente empregadas devido ao seu baixo custo e alta reatividade, permitindo a utilização de condições operacionais mais brandas.

Considerando os malefícios associados ao uso de resinas tóxicas, a produção de painéis de partículas sem ligantes tóxicos (*self-bonding*) ou com ligantes renováveis oferece benefícios econômicos e para a saúde. Atualmente, apenas 5% dos painéis de partículas produzidos utilizam adesivos naturais, como taninos, carboidratos, látex de borracha natural e ligninas [42,157,158]. No entanto, o alto custo e a limitada performance desses materiais restringem suas aplicações em maior escala [165]. Dessa forma, a fabricação de painéis de fibras livres de adesivos surge como uma abordagem promissora, tanto do ponto de vista econômico quanto ambiental.

Em busca de tecnologias mais sustentáveis, processos de fabricação de painéis de partículas livres de formaldeído baseados na capacidade de auto-ligação dos componentes presentes na matriz lignocelulósica, têm sido relatados em diversos estudos [155,160,161] e são considerados candidatos promissores aos modelos tradicionais, pois são ecologicamente corretos, não requerem a adição de resinas e possuem aplicações domésticas [168]. O processo de produção sem adesivos envolve a ativação da biomassa vegetal por meio de tratamentos específicos, que geram radicais livres na superfície das fibras, resultando na ligação das partículas sob condições controladas [155,159].

Na natureza, a lignina desempenha diversas funções nas plantas, atuando como um aglutinante natural que contribui para a rigidez, resistência a ataques de parasitas e bactérias [163,148]. Estudos recentes destacam a capacidade de auto-ligação dos componentes estruturais da biomassa lignocelulósica, uma característica atribuída à lignina, que age como um adesivo natural e desempenha um papel crucial no desenvolvimento de painéis de partículas sem adesivos. Essa atividade é potencializada durante o processamento térmico, no qual a fração de lignina melhora o desempenho mecânico e físico do produto final [170].

Explorar a capacidade adesiva da lignina em biocompósitos, sem a adição de formaldeído, é uma abordagem mais sustentável e ecológica em comparação com os métodos tradicionais, e tem se tornado gradualmente um foco de pesquisa [164]. A estrutura aromática da lignina oferece diversas possibilidades para a valorização de derivados naturais. Os sítios ativos em sua estrutura

podem ser modificados por meio de tratamentos físicos, químicos ou biológicos, com o objetivo de potencializar suas propriedades adesivas [51]. Por exemplo, [161] produziram biocompósitos com excelentes propriedades mecânicas a partir de pó de buxo (*Buxus*) utilizando um pré-tratamento em moinho de bolas e prensagem a quente em uma única etapa. Em outro estudo, [156] utilizaram pó de madeira de buxo, após tratamento com ácido acético 6%, para produzir biocompósitos. Para a prensagem a quente, o material tratado foi colocado no molde, com pressão ajustada para 75 MPa, temperatura de 180°C e tempo de 90 minutos. Os resultados de resistência à flexão obtidos foram de 43,9 MPa e 48,62 MPa para materiais com 6% e 8% de umidade, respectivamente. Nesse caso, o tratamento ácido promoveu a degradação parcial da celulose e hemicelulose, além da remoção parcial da lignina, mantendo a integridade da estrutura aromática. Durante o processo de prensagem, a lignina se transforma e atua como um adesivo, com os radicais hidroxilas formando ligações de hidrogênio.

Uma outra abordagem, envolve o uso de tratamentos biológicos. O estudo de Liu *et al.* (2019) [171] utilizou talos de algodão que foram cultivados com o fungo da podridão branca *Ganoderma lucidum*, seguido de prensagem a quente. Com o crescimento fúngico, os componentes da biomassa vegetal foram degradados pela secreção de enzimas lignolíticas, e durante a prensagem, o material foi densificado, formando novas ligações químicas entre o micélio e as partículas da biomassa. A resistência à flexão obtida foi de 4,60 MPa para o material prensado a 200°C, sendo comparável à resistência de painéis de fibras não estruturais.

2.14 Celulose: características estruturais e aplicações em biocompósito

A celulose se destaca como matéria-prima para diversos setores de materiais poliméricos devido à sua abundância, leveza, alta resistência, além de ser renovável e biodegradável. No entanto, sua aplicação no desenvolvimento de compósitos é limitada por seu caráter hidrofílico, resultado dos grupos hidroxila naturalmente presentes nas superfícies das fibrilas. Para garantir sua estabilidade em ambientes úmidos, é necessário combinar essas fibras com resinas que promovem resistência à água [172]. Nas plantas, a estabilidade é

proporcionada pela associação das fibras de celulose com a lignina, que age como um agente ligante, unindo as células na matriz lignocelulósica. Isso confere rigidez, resistência e limita a absorção de água [163,145].

Para a valorização do material lignocelulósico por meio de sua capacidade de auto-ligação, é necessário compactá-lo para eliminar os espaços internos formados pelas fibras de celulose, que estão intimamente associadas à hemicelulose e à lignina. Durante a compactação, ocorre um aumento na seção transversal do material, resultando em maior densidade e rigidez. Contudo, devido à lignina ser um agente recalcitrante, responsável pela resistência física e biológica das plantas [167,163]; o processo de densificação exige condições rigorosas para a formação do biocompósito. Essa característica pode ser suavizada por meio de um tratamento, predominantemente químico, que visa o amaciamento da matriz lignocelulósica antes da prensagem a quente. O tratamento químico atua no afrouxamento dos componentes da biomassa, aliado a uma remoção parcial dos componentes não celulósicos, que afetam negativamente a resistência mecânica do biocompósito, dificultando a interação e a capacidade de ligação entre as fibras e a matriz [174]. Assim, o uso de tratamentos químicos contribui para a melhoria da processabilidade [175]. É importante considerar sua temperatura de transição vítrea, que varia entre 80 e 190°C [172], dependendo da origem da biomassa e das condições do processo de extração [176]. No caso da lignina Kraft, essa transição ocorre acima de 200°C, enquanto para lignina organossolv, valores entre 90 – 140°C são reportados [172].

Em resumo, a etapa de tratamento químico tem como objetivo a remoção parcial da hemicelulose e lignina, o que reduz a recalcitrância da biomassa. Esse processo facilita a interação mais estreita entre as fibras de celulose e a lignina residual, ao mesmo tempo que gera componentes com propriedades adesivas, que possibilitam a união das fibras durante a prensagem a quente [148,150]. Durante o processo de prensagem a quente, a lignina disponível sofre transição vítrea, amolecendo e penetrando entre as fibras de celulose. Assim, ela atua como um "adesivo", preenchendo os vazios entre as fibras, o que resulta principalmente no aumento das propriedades mecânicas e da hidrofobicidade do biocompósito. O tratamento alcalino é uma opção eficaz, pois remove componentes indesejados da estrutura das fibras, como ceras, óleos,

hemicelulose e lignina. Além disso, aumenta a rugosidade das fibras, favorecendo um melhor entrelaçamento [174].

2.15 Estratégias para produção de biocompósitos sustentáveis

A utilização de resinas de origem fóssil (uréia-formaldeído, fenol-formaldeído e melamina-formaldeído) na produção de biocompósitos tem como objetivo aumentar as interações entre as fibras, de modo que as ligações formadas sejam fortes e resultem em propriedades como boa adesão e resistência mecânica além de fácil processamento. Nesse contexto, a produção de biocompósitos sem resinas apresenta um desafio. O método mais explorado para contornar essa limitação é o tratamento químico com diferentes agentes, que promovem a ativação da superfície das fibras [165].

O uso de subprodutos não-madeireiros na produção de biocompósitos exige o emprego de condições de processamento otimizadas para atender aos requisitos de desempenho estabelecidos pelas regulamentações. Um dos desafios é que os subprodutos agrícolas, como palhas, cascas e bagaço, possuem baixa densidade e precisam ser modificados para atender às diretrizes que regulamentam a sua produção, no caso do Brasil a ABNT NBR 14810. Os principais métodos de modificação utilizados são o tratamento químico e a densificação. Durante a densificação, esses materiais são altamente comprimidos, mas mantendo o alinhamento natural das fibras de celulose [175].

Os constituintes da biomassa vegetal atingem o estágio de auto-ligação durante a prensagem a quente. Assim, os parâmetros operacionais, como temperatura, pressão e tempo, têm um papel fundamental nas propriedades dos biocompósitos resultantes. Durante essa etapa, ocorrem reações importantes, como a quebra da lignina em componentes de baixo peso molecular, a degradação da hemicelulose e a exposição das superfícies de celulose. Essas reações favorecem o entrelaçamento das fibras de celulose com os demais componentes do biocompósito. A degradação desses componentes facilita a compressão, reduzindo a resistência durante a prensagem a quente e melhorando o contato partícula-partícula, essencial para a auto-ligação [158].

No processo de produção a seco e sem a adição de resinas, as condições operacionais devem ser cuidadosamente selecionadas para garantir a

evaporação do excesso de umidade, a redução da espessura do material e a fusão da lignina, que deve infiltrar nas fibras de celulose. Esse processo preenche os vazios disponíveis e adsorve nas superfícies, envolvendo de maneira uniforme e firme as fibras de celulose e lignina [172]. Por exemplo, Cheng *et al.* (2024) [170] investigaram o efeito da temperatura (150, 170 e 190°C) e do teor de umidade (8 e 20%) na produção de biocompósitos a partir de resíduos de madeira de choupo. Os resultados indicaram que a melhor condição foi de 170°C com 20% de umidade. Essas condições proporcionaram melhores propriedades mecânicas (ligação interna de 0,77 MPa) e físicas (absorção de água de 8,14%). Os autores atribuíram esses resultados ao alto teor de umidade e à temperatura necessária para a volatilização e infiltração da lignina na matriz, o que torna as partículas mais maleáveis durante a prensagem a quente. Estudos indicam que um teor de umidade entre 5% e 20% é necessário para garantir a transferência de calor durante a prensagem a quente, além de favorecer a fluidez da lignina, que se torna mais maleável devido ao processo de plastificação das partículas, o que aumenta a capacidade de auto-ligação do biocompósito [164,156,171]. No entanto, um alto teor de umidade pode acarretar problemas como adesão inadequada das fibras, delaminação e manchas [178]. Durante o processo de prensagem a quente, reações térmicas e químicas podem ocorrer nos substratos, como hidrólise, desidratação e oxidação. Alguns compostos termicamente sensíveis, como a hemicelulose, podem ser removidos nessa etapa. A remoção começa com a desacetilação causada pelo calor, o que pode levar à formação de ácido acético. Este, por sua vez, pode atuar como catalisador, acelerando a desidratação da hemicelulose e promovendo a remoção de grupos hidroxila e carbonila, resultando em uma despolimerização em cascata que pode gerar compostos como furfural e hidroximetilfurfural [156].

A temperatura de prensagem é um parâmetro crucial, pois influencia diretamente as reações químicas que ocorrem durante o processo, impactando as propriedades do biocompósito final [155,173]. Um problema comum relacionado a isso é a temperatura inadequada de prensagem. Quando a prensagem ocorre a uma temperatura muito baixa, abaixo da temperatura de transição vítrea da lignina, que varia conforme seu tipo, a infiltração nas fibras de celulose não ocorre de forma eficiente, o que compromete a interação entre esses componentes. Por outro lado, temperaturas excessivamente altas (acima

de 200°C) podem causar a fusão da lignina e, em alguns casos, até sua pirólise [172]. Além disso, temperaturas elevadas podem levar à destruição da celulose por queima, resultando na perda de rigidez do material [165].

2.16 Propriedades e desempenho de biocompósitos na substituição de materiais convencionais

Os biocompósitos produzidos a partir de subprodutos agrícolas (bagaço de cana-de-açúcar, fibras de bambu, casca de arroz) oferecem diversas vantagens que podem tornar o processo mais atraente. Além de serem renováveis, esses materiais são mais leves em comparação aos tradicionais à base de madeira ou plásticos derivados do petróleo, e suas propriedades mecânicas podem ser ajustadas conforme o uso final. Em um estudo realizado por Domínguez-Robles *et al.* (2018) [180] biocompósitos foram produzidos a partir de palha de trigo tratada quimicamente (7% de NaOH a 100°C por 150 minutos) e com adição de diferentes quantidades de lignina recuperada no mesmo processo. O material foi prensado a quente a 230°C por 73 minutos. O biocompósito com 15% de lignina apresentou resistência à flexão de 96,81 MPa e módulo de flexão de 3,55 GPa, superando as propriedades do HDF comercial, que apresentou resistência à flexão de 41,70 MPa. A tecnologia de produção de biocompósitos de auto-ligação com propriedades satisfatórias também foi alcançada utilizando aparas de madeira [175,150,156] e fibras de linho (*Linum usitatissimum*) [166]. Na **Tabela 3** estão apresentados dados de propriedades mecânicas e físicas para biocompósitos produzidos a partir de diferentes biomassas lignocelulósicas.

Matéria-prima	Condições de produção	Densidade (g/cm³)	Resistência a flexão (MOR) MPa	Modulo de flexão (GPa)	Módulo de elasticidade (MOE)	Resistência à água (TS e WA)*	Referência
Resíduos da cultura do feijão (<i>Cajanus cajan</i> L. Mill sp.) e resíduos de madeira (<i>Hevea brasiliensis</i>) combinados com adesivo de poliuretano vegetal (livre de formaldeído).	Pré-prensada a 0,5 MPa por 5 min em temperatura ambiente seguido por 15 minutos a 4,0 MPa.	0,75	14,41	-	939,32 MPa	Absorção de água: 7,68% Inchamento em espessura: 1,73%	[182]
Fibra de kenaf com adição de amido de batata (10%).	180°C por 20 minutos sob pressão de 12 MPa	0,80	11,39	-	1540 MPa	Absorção de água: 444% Inchamento em espessura: 241%	[157]
Partículas de bambu pré-tratada mecanicamente e quimicamente	Pré-prensado a 1 MPa por 12 h a 80°C seguido por 90 minutos a 50 MPa a 140°C	1,26	162	6.6	-	Absorção de água: 47.8%	[155]
Partículas de madeira (<i>boxwood</i>) pré-tratada quimicamente (HCl)	170 °C por 60 minutos sob pressão de 30 MPa.	1,55	92,21	-	-	-	[161]
Partículas de madeira (<i>Buxus sinica</i>) pré-tratada quimicamente (H ₂ O ₂ , NaOH, Na ₂ SiO ₃).	170°C por 60 minutos sob pressão de 75 MPa.	1,46	141,98	3,72	-	Absorção de água: 25% Inchamento em espessura: 14%	[183]
Partículas de madeira de choupo (<i>Populus nigra</i>)	180°C por 60 minutos sob pressão de 30 MPa.	1,39	50,5	3,17	-	Absorção de água: ~5% Inchamento em espessura: ~7%	[162]

Resíduos de madeira – choupo (<i>Populus nigra</i>) combinadas com lignina soda.	175°C por 45 minutos sob pressão de 32 MPa.	1,44	84,40	11,35	-	Absorção de água: 8,42%	[167]
Bagaço de cana-de-açúcar	180°C por 30 minutos sob pressão de 12 MPa.	0,80	15,16	-	1710	Absorção de água: 13% Inchamento em espessura: 10%	[179]
Resíduos de madeira (<i>boxwood</i>) pré-tratado quimicamente com CH ₃ COOH	180°C por 90 minutos sob pressão de 75 MPa.	1,45	48,62	-	6171,85	Absorção de água: ~7% Inchamento em espessura: ~3%	[156]
Palha de trigo combinada com lignina soda (15%)	75°C por 3 min sob pressão de 8 MPa, seguida por aumento da pressão para 14 MPa por 5 min. Temperatura aumentada para 150°C por 60 min. Por fim, aumentado gradualmente a 230°C e 14 MPa.	1,16	96,81	3,55	-	-	[180]

*após 24 horas de imersão

Fonte: Elaborada pela autora (2024)

Tabela 2 - Comparação de biocompósitos produzidos a partir de diferentes subprodutos agrícolas e florestais quanto as condições de produção e propriedades físicas e mecânicas.

3 OBJETIVOS

3.1 GERAL

Desenvolver processos inovadores para agregar valor aos subprodutos do processamento da cana-de-açúcar, como palha e bagaço, com foco na produção de lipídios e na fabricação de biocompósitos de média densidade, alinhados ao conceito de biorrefinaria sustentável.

3.2 Específicos

- I. Avaliar, quanto ao crescimento de biomassa celular e a produção de lipídios, três cepas de *Rhodosporidium toruloides* em meios compostos por glicose, xilose e uma mistura destes.
- II. Adaptar gradualmente três cepas de *Rhodosporidium sp.* ao hidrolisado hemicelulósico de biomassa de cana-de-açúcar (HHC) e realizar fermentações comparativas utilizando cepas adaptadas e não adaptadas em hidrolisado hemicelulósico não destoxificado.
- III. Produzir biocompósitos utilizando polpa alcalina (tratada com NaOH) de bagaço de cana-de-açúcar e avaliar suas propriedades físicas e mecânicas.
- IV. Investigar o efeito da adição de lignina alcalina, em proporções de 0% a 20%, como adesivo natural no processo de fabricação dos painéis.
- V. Propor um modelo de biorrefinaria integrada que combine a produção de lipídios e a fabricação de biocompósitos de média densidade, utilizando palha e bagaço de cana-de-açúcar.

4. MATERIAL E MÉTODOS

Primeiro cenário: Fermentação de açúcares presentes na fração hemicelulósica visando a produção de lipídios por cepas de *Rhodosporidium toruloides*

4.1 Biomassa lignocelulósica de cana-de-açúcar

A palha e o bagaço de cana-de-açúcar foram gentilmente fornecidos pela Usina Santa Cruz, integrante do Grupo São Martinho, localizada na cidade de Américo Brasiliense, SP. Os materiais foram secos ao ar livre até atingirem um teor de umidade inferior a 10%, posteriormente moídos em um moinho de facas (Forage Crushers TRF-400) para obtenção de frações de menor granulometria (partículas em torno de 5 mm) e armazenada em galões de plástico hermeticamente fechados para evitar o ganho de umidade. Os materiais foram utilizados em seguida para realização das caracterizações químicas e etapa de tratamento químico para obtenção do hidrolisado hemicelulósico.

4.2 Tratamento com ácido diluído da biomassa de cana-de-açúcar

A biomassa de cana-de-açúcar foi submetida a uma hidrólise ácida diluída para a produção de um hidrolisado rico em xilose, que foi posteriormente empregado nas etapas de adaptação e fermentação das linhagens de *R. toruloides*. Para a hidrólise da biomassa de cana-de-açúcar, os experimentos foram realizados no Laboratório Nacional de Biorrenováveis, localizado no Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais (CNPEM), utilizando um reator de alto torque em escala piloto de 300 litros, no dia 29 de janeiro de 2019. Para a mistura de bagaço e palha de cana-de-açúcar (1:1), as condições utilizadas foram determinadas com base em trabalhos anteriores, sendo: relação sólido-líquido 1:10, temperatura de 140 °C, concentração de ácido sulfúrico de 0,5% (m/v) e tempo de reação de 15 minutos [70].

O hidrolisado hemicelulósico obtido foi filtrado para separar a celulignina e, em seguida, armazenado em frascos herméticos sob refrigeração a 4 °C para posterior caracterização dos teores de açúcares e compostos tóxicos. A celulignina resultante

dessa etapa foi lavada com água para remover o ácido residual, seca ao sol até alcançar uma umidade inferior a 10% e armazenada à temperatura ambiente para posterior caracterização química.

4.3 Caracterização química da biomassa de cana-de-açúcar

Os materiais lignocelulósicos do estudo (“in natura” e após o pré-tratamento: celulignina) tiveram o teor de umidade determinado após secagem em estufa a 105 °C, por diferença de massas, e foram caracterizados em termos de celulose, hemicelulose, lignina, cinzas e extrativos. Para isso, utilizou-se a metodologia padrão de determinação de carboidratos estruturais e lignina, desenvolvida pelo National Renewable Energy Laboratory (NREL), do U.S. Department of Energy [184]

Inicialmente, as amostras “in natura” passaram por uma etapa de remoção de compostos extraíveis por meio de um sistema de extração Soxhlet. As amostras (3,0 g de peso seco) foram empacotadas em papel filtro em triplicata e submetidas a extrações sequenciais de aproximadamente 250 mL cada, utilizando inicialmente três ciclos com água destilada, seguidos de três extrações com etanol. Após essa etapa, os materiais foram secos em estufa a 105 °C até peso constante, e o teor de compostos extraíveis foi determinado com base na diferença entre as massas inicial e final.

Em seguida, foi realizada a etapa de hidrólise ácida em duas etapas (banho-maria – banho ultratermostático SL - 152 e autoclave - Phoenix Luferco) no material livre de extrativos para a determinação dos carboidratos estruturais e da lignina. Para isso, 0,3 g de material seco foi colocado em tubos de ensaio, aos quais foram adicionados 3 mL de H₂SO₄ a 72% (m/m). Os tubos foram incubados em banho-maria a 30 °C por 60 minutos, com agitação suave a cada 10 minutos, utilizando um bastão de vidro.

Após essa etapa, o conteúdo dos tubos foi transferido para um frasco Schott, onde foram adicionados 84 mL de água destilada, de modo que a concentração do ácido fosse reduzida para 4% (m/m), e então autoclavado a 121 °C por 60 minutos. Após os frascos atingirem a temperatura ambiente, o conteúdo de cada um foi filtrado a vácuo utilizando cadinhos Gooch devidamente identificados e pesados, para separar

as frações líquida e sólida. O material sólido retido no cadinho foi seco em estufa a 105 °C até massa constante, permitindo a determinação da lignina insolúvel por meio de análise gravimétrica.

A lignina solúvel presente na fração líquida do hidrolisado ácido foi determinada por espectrofotometria UV-Vis (205 nm) (Ultrospec 2000 UV/Vis Pharmacia Biotech). O líquido recolhido foi ainda armazenado para posterior análise em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), visando determinar os teores de glicose, xilose, arabinose, ácido acético e compostos fenólicos.

Para a determinação de cinzas, utilizou-se a biomassa “in natura”, cuja massa conhecida foi colocada em um cadinho previamente pesado e levada à mufla por 3 horas a 575 °C (aquecimento progressivo). O teor de cinzas foi determinado por diferença de massas. As mesmas etapas de caracterização, exceto a remoção de extrativos, foram realizadas para a celulignina.

4.4 Micro-organismos e condições de cultura

4.4.1 Micro-organismos

As cepas oleaginosas *Rhodospiridium toruloides* UFMG-CM-Y2896, *Rhodospiridium toruloides* UFMG-CM-Y2781 e *Rhodospiridium toruloides* UFMG-CM-Y2882, utilizadas neste estudo, foram obtidas da Coleção de Micro-organismos, DNA e Células da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Brasil, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Carlos Augusto Rosa. Essas leveduras foram originalmente isoladas de amostras de madeira em decomposição na região de Taquaruçu, no estado do Tocantins, e o sequenciamento e análise do genoma foram realizados no Laboratório de Taxonomia, Biodiversidade e Biotecnologia de Fungos do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da UFMG [185].

As cepas foram armazenadas a -80 °C em 30% (v/v) de glicerol. Para a manutenção das leveduras em estoque, estas foram preservadas em placas de Petri contendo meio de cultura solidificado (10 g.L⁻¹ de glicose, 5 g.L⁻¹ de peptona, 3 g.L⁻¹ de extrato de levedura, 3 g.L⁻¹ de extrato de malte e 20 g.L⁻¹ de ágar) após incubação

em estufa a 28 °C por 24 horas. As placas foram armazenadas a 4 °C, com repiques realizados a cada 25 dias.

4.4.2 Curva padrão e produção de biomassa celular

O crescimento celular necessário para a elaboração da curva padrão das leveduras foi realizado em meio YPG (extrato de levedura, peptona e glicose), preparado nas seguintes proporções: 30 g.L⁻¹ de glicose, 20 g.L⁻¹ de peptona e 10 g.L⁻¹ de extrato de levedura. Para iniciar o processo, as leveduras foram previamente inoculadas em tubos de ensaio contendo ágar nutriente inclinado e incubadas por 24 horas a 28°C.

Em seguida, as células foram transferidas para 500 mL de meio YPG, distribuído em frascos de 125 mL, com 50 mL de meio por frasco, e incubadas por 24 horas a 28°C, com agitação de 200 rpm em agitador orbital (New Brunswick Scientific, EUA). Após o período de incubação, o conteúdo dos frascos foi centrifugado a 1157 *xg* por 5 minutos, e as células foram lavadas com água estéril para remover os nutrientes residuais. Posteriormente, as células foram ressuspensas em água estéril para a obtenção de uma solução-mãe de células. A partir dessa solução-mãe, alíquotas foram retiradas e analisadas em espectrofotômetro a 600 nm, com subseqüentes diluições realizadas para obtenção dos demais pontos da curva padrão.

Para a determinação do peso seco da solução-mãe e dos demais pontos da curva, 10 mL da solução-mãe foram transferidos para cadinhos previamente secos e pesados, os quais foram mantidos em estufa a 100°C até atingirem peso constante. Assim, o peso seco foi determinado por análise gravimétrica, permitindo o cálculo do valor mássico. A concentração celular nas demais diluições foi determinada com base nos valores de absorbância medidos para cada diluição da solução mãe. A partir desses dados, foram elaboradas curvas padrão específicas para cada espécie de levedura (Apêndice 1).

4.4.3 Preparo do Inóculo

O inóculo da fermentação foi preparado em frascos do tipo Erlenmeyer de 1000 mL, contendo 400mL de meio YPG (extrato de levedura, peptona e glicose), preparado nas seguintes proporções: 30 g.L⁻¹ de glicose, 20 g.L⁻¹ de peptona e 10 g.L⁻¹ de extrato de levedura e inoculados a partir de células crescidas previamente em tubos de ensaios com ágar nutriente inclinado. Os frascos foram incubados a 28°C em um agitador orbital (New Brunswick Scientific, U.S.) com uma agitação de 180 rpm. Após 24 horas, o conteúdo dos frascos foi centrifugado (1157 *xg* por 5 minutos) e as células foram lavadas com água estéril para remoção dos nutrientes residuais a partir do meio de pré-cultura e então re-suspendidas em água estéril. O volume de água adicionado foi ajustado para resultar em uma concentração celular específica para cada etapa fermentativa (1,5 g.L⁻¹ e 2 g.L⁻¹). O crescimento celular foi estimado medindo a absorbância do caldo de fermentação em espectrofotômetro (OD600 nm) (Ultrospec 2000 UV/Vis Pharmacia Biotech) e convertido em concentração de biomassa celular usando uma curva de calibração – específica para cada cepa utilizada (Apêndice 1).

4.5 Fermentação das cepas oleaginosas em meios semi-definido

As três diferentes leveduras oleaginosas foram avaliadas em ensaio com frascos, utilizando uma fonte comercial de carbono em meio semi-definido. Os meios de avaliação incluíam o cultivo das leveduras com glicose (meio G), xilose (meio X) ou ambos, nas mesmas concentrações encontradas no hidrolisado hemicelulósico de cana-de-açúcar, com a presença (meio GXAc) ou ausência (meio GX) de ácido acético (**Tabela – 4**), com o objetivo de comparar as performances fermentativas e a capacidade de acumular lipídios. A composição dos meios semi-definidos está descrita na Tabela 4. A razão C:N dos meios utilizados foi calculada com base na razão entre os mols de carbono disponível nos açúcares (glicose e xilose) e os mols de nitrogênio presente nos reagentes utilizados. O pH do meio foi medido e ajustado para 5,5, quando necessário, pela adição de soluções de NaOH (2M) ou H₂SO₄ (2M). Os meios foram autoclavados a 121°C por 15 minutos.

Cada experimento foi realizado em duplicata a 28 °C e 200 rpm, utilizando um agitador orbital (New Brunswick Scientific, EUA), com duração de 96 horas. Os ensaios de avaliação iniciaram com o inóculo de uma alíquota da solução de massa celular (1 g.L⁻¹) em frascos Erlenmeyer de 125 mL, contendo 40% de meio. Ao final do cultivo, o conteúdo de cada frasco foi centrifugado a 1157 *xg* por 5 minutos. Alíquotas de 2 mL do sobrenadante foram coletadas a cada 24 horas e armazenadas para análises subsequentes de açúcares, compostos fenólicos e derivados furânicos em CLAE. Fenóis totais foi determinado em espectrofotômetro (Ultrospec 2000 UV/Vis Pharmacia Biotech). A massa celular obtida foi lavada com água destilada para remoção dos componentes residuais do meio, sendo então seca em estufa por 24 h a 80°C para os ensaios de recuperação de lipídios.

Tabela 3 - Meios semi-definidos de cultivo empregados para fermentação das cepas de *R. toruloides*.

Meio de Cultivo	C:N	Componentes
Meio G	32	50 g.L ⁻¹ glicose, 2 g.L ⁻¹ de extrato de levedura, 1 g.L ⁻¹ de MgSO ₄ .7H ₂ O, 2 g.L ⁻¹ de (NH ₄) ₂ SO ₄ e 3 g.L ⁻¹ de KH ₂ PO ₄ .
Meio X	32	50 g.L ⁻¹ xilose, 2 g.L ⁻¹ de extrato de levedura, 1 g.L ⁻¹ de MgSO ₄ .7H ₂ O, 2 g.L ⁻¹ de (NH ₄) ₂ SO ₄ e 3 g.L ⁻¹ de KH ₂ PO ₄ .
Meio MGX	21,8	30 g.L ⁻¹ de xilose, 4 g.L ⁻¹ de glicose, 2 g.L ⁻¹ de extrato de levedura, 1 g.L ⁻¹ de MgSO ₄ .7H ₂ O, 2 g.L ⁻¹ de (NH ₄) ₂ SO ₄ e 3 g.L ⁻¹ de KH ₂ PO ₄ .
Meio MGXAc	21,8	30 g.L ⁻¹ de xilose, 4 g.L ⁻¹ de glicose, 4 g.L ⁻¹ de ácido acético, 2 g.L ⁻¹ de extrato de levedura, 1 g.L ⁻¹ de MgSO ₄ .7H ₂ O, 2 g.L ⁻¹ de (NH ₄) ₂ SO ₄ e 3 g.L ⁻¹ de KH ₂ PO ₄ .

Fonte: Elaborada pela Autora (2024).

4.6 Cultivo das leveduras em hidrolisado hemicelulósico de biomassa de cana-de-açúcar

Os ensaios realizados com hidrolisado hemicelulósico sem destoxificação visaram avaliar a tolerância e a capacidade das leveduras em metabolizar os açúcares presentes no hidrolisado lignocelulósico na presença de compostos de degradação

oriundos da etapa de pré-tratamento que agem como inibidores metabólicos na fermentação.

O hidrolisado hemicelulósico obtido teve seu pH ajustado para 5,5 utilizando solução de NaOH a 1M, foi submetido a filtração a vácuo e esterilizado em autoclave a 110°C e 1 atm por 15 minutos, sendo então utilizado nos cultivos seguintes. As leveduras foram cultivadas em frascos Erlenmeyer de 250 mL contendo 40% de hidrolisado hemicelulósico, com suplementação de nutrientes (2,0 g.L⁻¹ extrato de levedura; 1,0 g.L⁻¹ MgSO₄.7H₂O; 2,0 g.L⁻¹ (NH₄)₂SO₄ e 3,0 g.L⁻¹ KH₂PO₄) alcançando uma razão C:N de 18,2. A concentração de inóculo utilizada nesta etapa foi aumentada para 1,5 g.L⁻¹ para favorecer o crescimento das leveduras em um meio contendo compostos inibitórios. Os ensaios foram conduzidos em duplicata. Alíquotas de 2 mL foram coletadas a cada 24 horas para análise do crescimento celular, pH e consumo de substrato durante a fermentação. Ao final, as células foram centrifugadas (1157 *xg* por 5 minutos), lavadas duas vezes com água destilada e utilizadas para a determinação dos lipídeos totais.

4.7 Adaptação das leveduras em hidrolisado hemicelulósico não-destoxificado (HHC)

Para aumentar a tolerância das cepas de *Rhodospiridium toruloides* aos compostos tóxicos presentes no hidrolisado hemicelulósico (HHC), as linhagens foram gradualmente cultivadas em meios com concentrações crescentes de HHC. Em resumo, cada cepa, com uma concentração de inóculo de 1,5 g.L⁻¹, foi cultivada em uma mistura de meio semi-definido (20,0 g.L⁻¹ xilose; 5,0 g.L⁻¹ glicose; 2,0 g.L⁻¹ extrato de levedura; 1,0 g.L⁻¹ MgSO₄.7H₂O; 2,0 g.L⁻¹ (NH₄)₂SO₄ e 3,0 g.L⁻¹ KH₂PO₄) e hidrolisado hemicelulósico, com ajuste do pH para 5,5 com NaOH. O processo teve início com uma solução contendo 10% de HHC e 90% de meio semidefinido, sendo o teor de HHC aumentado em 10% a cada 24 horas, até alcançar 100%. Esse procedimento totalizou 240 horas de cultivo, estabelecendo 10 níveis de adaptação progressiva à concentração de HHC no meio. Os cultivos foram realizados em frascos de 125 mL, contendo 50 mL de meio por frasco.

Esse método permitiu que as cepas de *R. toruloides* se adaptassem gradualmente aos compostos inibitórios presentes no hidrolisado. O objetivo do processo foi mitigar o impacto inicial dos compostos tóxicos no metabolismo das leveduras, promovendo uma adaptação metabólica e aumentando a resistência das cepas ao HHC. Ao final dos cultivos, 100 µL do caldo foram espalhados em placas de ágar YMA (3 g.L⁻¹ extrato de levedura, 3 g.L⁻¹ extrato de malte, 5 g.L⁻¹ peptona e 20 g.L⁻¹ ágar) e incubados, obtendo-se uma cepa denominada adaptada para cada estirpe de *R. toruloides*. Após o processo de adaptação, as leveduras adaptadas foram cultivadas em hidrolisado hemicelulósico, conforme descrito no 4.6.

4.8 Determinação do conteúdo de óleo microbiano produzidos pelas cepas não-adaptadas e adaptadas

A extração e determinação de lipídios foi realizada de forma adaptada com base no método descrito por Folch *et al.* (1957) [186]. Para a recuperação dos lipídios, foi necessária a realização de uma etapa prévia de ruptura celular. Inicialmente, a biomassa celular, previamente seca em estufa a 80 °C até atingir peso constante, foi macerada em almofariz com pistilo para facilitar a extração lipídica e, em seguida, utilizada nos ensaios. Foram utilizados 200 mg de biomassa celular, colocados em tubos com rosca, aos quais foi adicionada uma mistura de 10 mL de clorofórmio:metanol (2:1, v/v). Os tubos foram incubados em banho termostático (SL-152, Solab Científica) a 20 °C por 24 horas. Posteriormente, a mistura foi submetida a ultrassom (Q3.0/40A, Ultrasonique) por 10 minutos, seguida de agitação em vortex (AP56, Phoenix) por 1 minuto. Para induzir a separação de fases, foram adicionados 2 mL de solução de NaCl (1M) a cada tubo. Após essa etapa, os tubos foram centrifugados por 5 minutos a 1157 *xg*, resultando na formação de duas fases: a fase aquosa e a fase orgânica, esta última contendo os lipídios. A fase orgânica foi cuidadosamente separada e filtrada em papel Whatman (8 µm) para remover debris celulares, transferida para tubos pré-pesados e levada a uma capela de exaustão por pelo menos 24 horas para evaporação do solvente. O material seco restante representou a fração lipídica recuperada.

Por fim, os tubos contendo a fração lipídica seca foram pesados em balança analítica para quantificação. Acúmulo lipídico (%) (Equação 1), concentração lipídica (mg.L⁻¹) (Equação 2) e a produtividade lipídica (mg.L⁻¹.h⁻¹) (Equação 3) foram calculados gravimetricamente, de acordo com as equações 1 a 4 descritas por [132].

$$\text{Acúmulo lipídico} = \frac{\text{conteúdo lipídico (g)}}{\text{biomassa seca (g)}} \quad (1)$$

$$\text{Concentração lipídica} = \frac{\text{massa lipídios (mg)}}{\text{volume amostra (L)}} \quad (2)$$

$$\text{Produtividade lipídica} = \frac{\text{concentração lipídica (mg.L}^{-1}\text{)}}{\text{Tempo de fermentação (horas)}} \quad (3)$$

4.9 Métodos Analíticos

4.9.1 Determinação da concentração celular

A concentração celular foi estimada por meio da medição da absorbância do caldo fermentativo em um espectrofotômetro a 600 nm (OD₆₀₀) (Ultrospec 2000 UV/Vis, Pharmacia Biotech) e correlacionada com a massa seca das células, utilizando uma curva padrão previamente estabelecida para cada levedura (Apêndice 1).

4.9.2 Determinação da concentração de açúcares e ácido acético

As concentrações de arabinose, glicose, xilose e ácido acético nas alíquotas coletadas da etapa de caracterização da biomassa, pré-tratamento e os experimentos fermentativos foram quantificadas usando um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (LC-20AT, Shimadzu, Kyoto, Japão). As amostras foram previamente filtradas utilizando filtros Sep Pak C18 e analisadas em uma coluna HPX-87H (300 x 7,8 mm), Aminex (BioRad), acoplada a um detector de índice de refração (RID-10A, Shimadzu, Kyoto, Japão). O volume de injeção foi de 20 µL, e a análise foi realizada a 60°C, com eluição isocrática a 0,6 mL.min⁻¹, utilizando H₂SO₄ 0,01N como fase móvel [187].

4.9.3 Determinação dos compostos fenólicos e derivados furânicos

As concentrações de furfural, 5-HMF, vanilina, ácido 2,4-diidroxibenzóico, siringaldeído, ácido benzóico, ácido gálico, ácido caféico e fenol foram determinadas utilizando o mesmo sistema CLAE. As amostras foram previamente filtradas com auxílio de seringas equipadas com filtros Minisart e, em seguida, injetadas em uma coluna Agilent Zorbax Eclipse Plus C18 (4,6 mm x 100 mm, 3,5 µm), mantida à temperatura de 30°C. O volume de injeção foi de 10 µL, e a detecção foi realizada por meio de um detector ultravioleta-visível (UV-Vis) ajustado a 276 nm. A fase móvel utilizada consistiu em uma mistura de acetonitrila e água (1:8) contendo 1% de ácido acético, com uma vazão de 0,8 mL.min⁻¹ [187].

4.9.4 Determinação de fenóis totais

O teor de fenóis totais das amostras de fermentação, nas quais o hidrolisado foi utilizado como meio de cultura, foi determinado conforme o procedimento descrito por Gouveia *et al.* (2009) [188]. De forma resumida, alíquotas de 500 µL das amostras a serem analisadas foram transferidas para tubos Falcon de 15 mL, e o volume foi ajustado para 2 mL com adição de água destilada. Em seguida, o pH das amostras foi medido e ajustado para 12 utilizando uma solução de NaOH 1 M. Posteriormente, a concentração de fenóis totais foi determinada pela medida de absorbância a 280 nm em um espectrofotômetro (Ultrospec 2000 UV/Vis, Pharmacia Biotech). Diluições foram realizadas, se necessário, para adequação à faixa de detecção do equipamento. A concentração foi calculada utilizando a Equação 4:

$$C_{\text{fenóis}} = 4.187 \times 10^{-2}(A_T - A_{pd}) - 3.279 \times 10^{-4} \quad (4)$$

$C_{\text{fenóis}}$: concentração de fenóis totais (g.L⁻¹); A_T : absorbância da amostra em 280 nm; A_{pd} : fator de correção para produtos de degradação do açúcar (furfural e 5-HMF), calculado pela Equação (5):

$$A_{pd} = C_1 \varepsilon_1 + C_2 \varepsilon_2 \quad (5)$$

Onde as concentrações C_1 e C_2 são determinadas por CLAE e ε_1 e ε_2 correspondem aos coeficientes de absorvidade de 146,85 e 114 L g⁻¹.cm⁻¹; respectivamente [188].

4.9.5 Determinação dos parâmetros fermentativos para processos descontínuos

Os resultados obtidos experimentalmente, incluindo a concentração de biomassa celular, substrato e produto recuperado, foram utilizados para calcular os parâmetros cinéticos da fermentação. Esses parâmetros incluem o rendimento de conversão de açúcares em produto ($Y_{P/S}$) (Equação 6), produtividade volumétrica (Q_P) (Equação 7) e rendimento de conversão de açúcares em células ($Y_{X/S}$) (Equação 8). Adicionalmente, foram determinadas a taxa de consumo de açúcar (r_s) (Equação 9), a taxa de consumo de ácido acético (r_{aa}) (Equação 10), a produtividade de biomassa (Q_X) (Equação 11) e a taxa de crescimento celular (μ) (Equação 12) [189].

4.9.5.1 Cálculo do coeficiente do rendimento de substrato a lipídio ($Y_{P/S}$)

O fator de conversão $Y_{P/S}$ expressa a massa de lipídios microbianos recuperados por massa de açúcares consumidos (glicose e xilose). Determinados pela equação (6):

$$Y_{P/S} = \frac{\Delta P}{\Delta S} = \frac{P_f - P_i}{S_i - S_f} \quad (6)$$

Onde P_f e P_i correspondem a concentração final e inicial de produto e S_i e S_f correspondem a concentração inicial e final de açúcares em g.L⁻¹.

4.9.5.2 Produtividade volumétrica (Q_P)

A produtividade volumétrica (Q_P) expressa em miligramas de lipídios por litro por hora; sendo calculada pela equação (7):

$$Q_P = \frac{P_f - P_i}{t} \quad (7)$$

Onde P_f representa a concentração final de lipídios (g.L^{-1}), P_i corresponde à concentração inicial de lipídios (g.L^{-1}), e t é o tempo correspondente de fermentação em horas.

4.9.5.3 Cálculo do coeficiente do rendimento de substrato a células ($Y_{X/S}$)

O fator de conversão de açúcares em biomassa celular $Y_{X/S}$ indica a quantidade de massa celular gerada por unidade de massa de açúcares consumidos. Esse fator é calculado utilizando a equação (8):

$$Y_{X/S} = \frac{\Delta X}{\Delta S} = \frac{X_f - X_i}{S_f - S_i} \quad (8)$$

Onde X_f e X_i correspondem às concentrações final e inicial de células (g.L^{-1}), respectivamente, e S_f e S_i correspondem a concentração final e inicial de substrato consumido (g.L^{-1}), respectivamente.

4.9.5.4 Taxa de consumo de açúcar (rs)

A taxa de consumo de açúcar (xilose e glicose) indica a quantidade de açúcares consumido por unidade de tempo durante o processo fermentativo, sendo expressa em g.L.h^{-1} . Esse parâmetro é calculado utilizando a equação (9):

$$rs = \frac{\Delta C_s (\text{g.L}^{-1})}{\Delta t \times V (\text{h.L})} \quad (9)$$

Onde ΔC_s representa a variação na concentração de açúcar (g.L^{-1}), Δt é o tempo de fermentação em horas e V é o volume do cultivo (L).

4.9.5.5 Taxa de consumo de ácido acético (raa)

A taxa de consumo de ácido acético indica a quantidade de ácido acético consumido por unidade de tempo durante o processo fermentativo, sendo expressa em g.L.h⁻¹. Esse parâmetro é calculado utilizando a equação (10):

$$raa = \frac{\Delta C_{aa} (g.L^{-1})}{\Delta t \times V (h.L)} \quad (10)$$

Onde ΔC_{aa} representa a variação na concentração de ácido acético (g.L⁻¹), Δt é o tempo de fermentação em horas e V é o volume do cultivo (L).

4.9.5.6 Produtividade de biomassa celular (Q_x)

A produtividade de biomassa celular indica a eficiência com que as células microbianas convertem os açúcares em biomassa celular ao longo do tempo, sendo expresso em g.L⁻¹.h⁻¹. Esse parâmetro é calculado utilizando a equação (11):

$$Q_x = \frac{\Delta x (g.L^{-1})}{t (h)} \quad (11)$$

Onde Δx é a variação na biomassa celular (g.L⁻¹) e t é o tempo de fermentação em horas.

4.9.5.7 Taxa de crescimento (μ)

A taxa de crescimento indica o aumento da população celular por unidade de tempo durante o processo fermentativo. Esse parâmetro é calculado utilizando a equação (12):

$$\mu = \frac{\ln(x_f/x_i)}{\Delta t} \quad (12)$$

Onde x_f é a concentração final de biomassa celular (g.L⁻¹), x_i é a concentração inicial de biomassa celular (g.L⁻¹) e Δt é o tempo total de fermentação em horas.

Segundo Cenário: desenvolvimento de biocompósitos à base de celulose-lignina

4.10 Matéria-prima

O bagaço de cana-de-açúcar utilizado nesta etapa do projeto foi cedido pela Rocky Point Sugar Mill em Woongoolba, Queensland, Austrália. A matéria-prima foi lavada com água quente para remoção dos açúcares solúveis, seca em estufa a 45°C até atingir umidade inferior a 10%, e moída em moinho de martelos Retsch SM100 (Retsch GmbH, Alemanha) com peneira de 2,0 mm. O bagaço moído foi armazenado em galões de plástico hermeticamente fechados para evitar o ganho de umidade.

4.11 Pré-tratamento alcalino (NaOH) da biomassa de cana-de-açúcar

A biomassa de cana-de-açúcar foi submetida a hidrólise alcalina para promover a deslignificação, sendo o material resultante posteriormente utilizado na produção de biocompósitos. Os experimentos de hidrólise alcalina foram realizados em escala piloto na Banyo Pilot Plant, uma instalação da Queensland University of Technology (QUT), utilizando um reator vertical de capacidade de 7,5 L (Parr Instrument Company, USA 4554).

Para o pré-tratamento alcalino, 700 g de bagaço de cana-de-açúcar foram misturados com uma solução de 3% de NaOH e carregados em um reator operando a 170°C. O processo foi conduzido com uma razão sólido-líquido de 1:5 e um tempo de reação de 1 hora. Ao término do tratamento, as frações sólida e líquida foram separadas por filtração a vácuo, resultando em uma polpa rica em celulose e um licor negro rico em lignina.

O sólido obtido foi inicialmente lavado com água para remover os componentes mais solúveis. Em seguida, realizou-se uma lavagem com uma solução de etanol e água na proporção de 50:50 (v/v), para remoção de parte da lignina dissolvida que pode permanecer adsorvida ao resíduo sólido, seguida de uma lavagem final com água destilada para eliminar quaisquer resíduos de etanol. Tanto o licor negro quanto a água utilizada nas etapas de lavagem foram armazenados em recipientes

herméticos, mantidos à temperatura ambiente, enquanto a polpa celulósica foi lavada com água até que o pH da água de lavagem atingisse a neutralidade. Após o procedimento, a polpa foi acondicionada úmida (> 50%) em um ultra freezer a -50°C para preservar a maleabilidade das fibras e facilitar a compactação. Este material foi utilizado tanto para as etapas de produção dos biocompósitos quanto para caracterizações imediatas e estruturais, seguindo metodologia descrita no item 4.3.

4.12 Recuperação da lignina

A lignina usada nesta etapa foi obtida do licor negro gerado no processo de pré-tratamento alcalino descrito no item 4.11. Durante o processo, uma parte substancial da lignina é fragmentada, integrando-se ao licor negro. O isolamento dessa fração de polímero aromático foi realizado por meio das etapas de concentração, precipitação, lavagem e secagem. Inicialmente, o licor negro previamente armazenado, juntamente com a água de lavagem, foi submetido à remoção do etanol por meio de um rota-evaporador operando a 60°C. Em seguida, o líquido recuperado teve seu pH medido e ajustado gradualmente para 3, utilizando uma solução de 2 mM de H₂SO₄, sob agitação constante, para promover a precipitação da lignina sem a formação de aglomerados. Após o processo de acidificação, a agitação foi interrompida, e o líquido foi separado por centrifugação a 2000 *xg* durante 5 minutos. A lignina recuperada foi cuidadosamente coletada e lavada com água destilada para remover sais e impurezas solúveis, até que o pH da água de lavagem atingisse valores próximos à neutralidade.

Posteriormente, a lignina úmida foi transferida para frascos abertos resistentes e submetida à secagem em uma estufa a vácuo a 45°C, para evitar possíveis degradações térmicas. Após a secagem, a lignina foi moída em um moinho de bolas (Benchmark BeadBlaster 96, New Jersey - EUA) por 25 segundos. A fração sólida obtida foi, então, destinada à incorporação para produção dos biocompósitos e à realização de etapas de caracterização.

4.12.1 Caracterização da lignina

A lignina extraída do licor negro foi caracterizada para determinar suas propriedades físico-químicas, incluindo o conteúdo de lignina insolúvel (Klason), lignina solúvel e cinzas. A fração solúvel foi determinada por meio de uma hidrólise em duas etapas, conforme descrito no item 4.3. Para quantificar a lignina solúvel, a solução hidrolisada foi analisada em um espectrofotômetro por absorção UV a 205 nm. O teor de cinzas foi determinado gravimetricamente após a carbonização da amostra em mufla, seguindo o procedimento descrito no item 4.3. Adicionalmente, a amostra de lignina obtida foi caracterizada termicamente através de análises termogravimétrica seguindo mesmo método descrito no item 4.14.2.4.

A pureza das amostras de lignina foi determinada pela razão de massa de lignina solúvel em ácido e insolúvel na amostra total de lignina [190]. A pureza da lignina foi calculada usando a Equação 13:

$$\text{Pureza (\%)} = \frac{m_1 + m_2}{m_3} \times 100 \quad (13)$$

Onde m_1 é o peso da lignina solúvel em ácido, m_2 é o peso da lignina insolúvel e m_3 é o peso da amostra de lignina.

Adicionalmente, a estrutura da lignina foi analisada em maior detalhe utilizando Ressonância Magnética Nuclear de Sinal Heteronuclear Bidimensional ^1H - ^{13}C (2D HSQC NMR) em um espectrômetro Bruker Avance de 600 MHz localizado no Central Analytical Research Facility (CARF) situado na Queensland University of Technology (QUT). Para esta análise, 40 mg de lignina foram completamente dissolvidos em 1 mL de dimetilsulfóxido deuterado (DMSO- d_6). A aquisição de dados foi realizada com uma taxa de varredura de 35 Hz, coletando 1024 pontos complexos para a dimensão ^1H , com um atraso de reciclagem de 1,5 segundos e um total de 64 transientes, incrementados 256 vezes para a dimensão ^{13}C . Os espectros obtidos foram processados utilizando o software TopSpin (versão 4.0.6) e as figuras resultantes foram elaboradas no Adobe Illustrator (versão 24.0). A identificação e atribuição dos picos foram realizadas com base em referências de publicações anteriores, garantindo uma interpretação consistente e comparável com estudos já existentes [175,174].

As unidades estruturais da lignina e as ligações interunitárias foram semi-quantificadas por meio da integração do volume dos picos cruzados nas regiões alifática e aromática dos espectros, conforme metodologia baseada em publicação anterior [192]. A composição aromática total foi determinada pela integração dos volumes dos sinais correspondentes às diferentes unidades aromáticas da lignina: guaiacil (G_2 e $G_{\text{condensado}}$), p-hidroxifenil ($H_{2,6}$) e siringil ($S'_{2,6}$ e $S_{\text{condensado}}$). Essa abordagem permitiu uma análise detalhada e comparativa das contribuições relativas de cada unidade estrutural e suas variações.

A determinação do conteúdo de grupos hidroxila na lignina foi realizada por meio de espectroscopia de ressonância magnética nuclear de fósforo-31 (^{31}P NMR) utilizando o mesmo equipamento. O procedimento experimental seguiu as etapas descritas a seguir. Primeiramente, uma solução denominada solução A foi preparada misturando clorofórmio deuterado e piridina na proporção de 1:1,6 (v/v). Em seguida, foram preparadas soluções do padrão interno e do reagente relaxante. O ciclohexanol foi dissolvido na solução A, na concentração de 11 mg.mL^{-1} , enquanto o acetilacetato de cromo foi dissolvido na mesma solução, na concentração de 5 mg.mL^{-1} . Posteriormente, 30 mg de lignina foram dissolvidos em solução A, e a mistura foi adicionada de 100 μL do padrão interno, 100 μL do reagente relaxante e 100 μL de 2-cloro-4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxafosforano (TMDP). O volume total da solução foi ajustado para 1 mL utilizando a solução A. A mistura final foi transferida para um tubo de RMN para análise. Os cálculos do conteúdo de grupos hidroxila foram realizados com base no sinal do padrão interno, ciclohexanol, detectado na região entre 144,5 e 144 ppm. Este método permitiu uma quantificação precisa das diferentes classes de grupos hidroxila presentes na lignina [193].

4.13 Processo de geração dos biocompósitos

A polpa celulósica recuperada foi utilizada na produção dos biocompósitos. Inicialmente, a polpa foi misturada com etanol (95%) por 30 minutos utilizando um misturador de alimentos (ANKO). Essa etapa teve como objetivo substituir a água presente na polpa, assegurar uma distribuição uniforme e desagregar aglomerados de fibras. Após esse processo, o teor de umidade da polpa foi determinado pela

secagem de uma massa conhecida em estufa a 105°C, e o resultado foi utilizado para calcular o volume necessário da suspensão para produzir os biocompósitos com dimensões de 51 x 51 mm e espessura alvo entre 2 e 3 mm.

Para formar o colchão de fibras, a suspensão foi vertida em um molde de alumínio de 51 x 51 mm. Em seguida, o molde foi pré-compactado utilizando uma prensa hidráulica de laboratório (IndiaMART), aplicando pressão por 30 segundos à temperatura ambiente para drenar o excesso de líquido. Posteriormente, o molde contendo o material pré-compactado foi transferido para uma estufa, onde foi mantido a 105°C por 2 horas, reduzindo o teor de umidade para menos de 10%. Esse parâmetro foi definido com base em experimentos preliminares, visando manter umidade suficiente para a transferência de calor durante a prensagem a quente, ao mesmo tempo que evita rupturas na superfície do material causadas por umidade excessiva.

4.14 Condições de formação do biocompósito durante a prensagem a quente

Após o controle do teor de umidade dos materiais, as amostras foram submetidas ao processo de prensagem a quente em diferentes condições. As temperaturas testadas foram 160°C, 180°C e 200°C, enquanto as pressões aplicadas foram 8, 24 e 40 MPa. Os experimentos foram conduzidos em triplicata. O tempo de prensagem foi mantido constante em 20 minutos, visando atingir uma densidade final de aproximadamente 0,6 g.cm⁻³. Ao término do processo, o molde contendo o material foi resfriado passivamente até atingir a temperatura ambiente, momento em que o biocompósito foi cuidadosamente removido. O biocompósito produzido a partir da polpa celulósica foi designado como BPC_{x,y}, em que x indica a temperatura de prensagem (160, 180 ou 200°C) e y a pressão aplicada (8, 24 ou 40 MPa). A **Figura 9** apresenta uma visão geral do processo de preparação dos biocompósito.

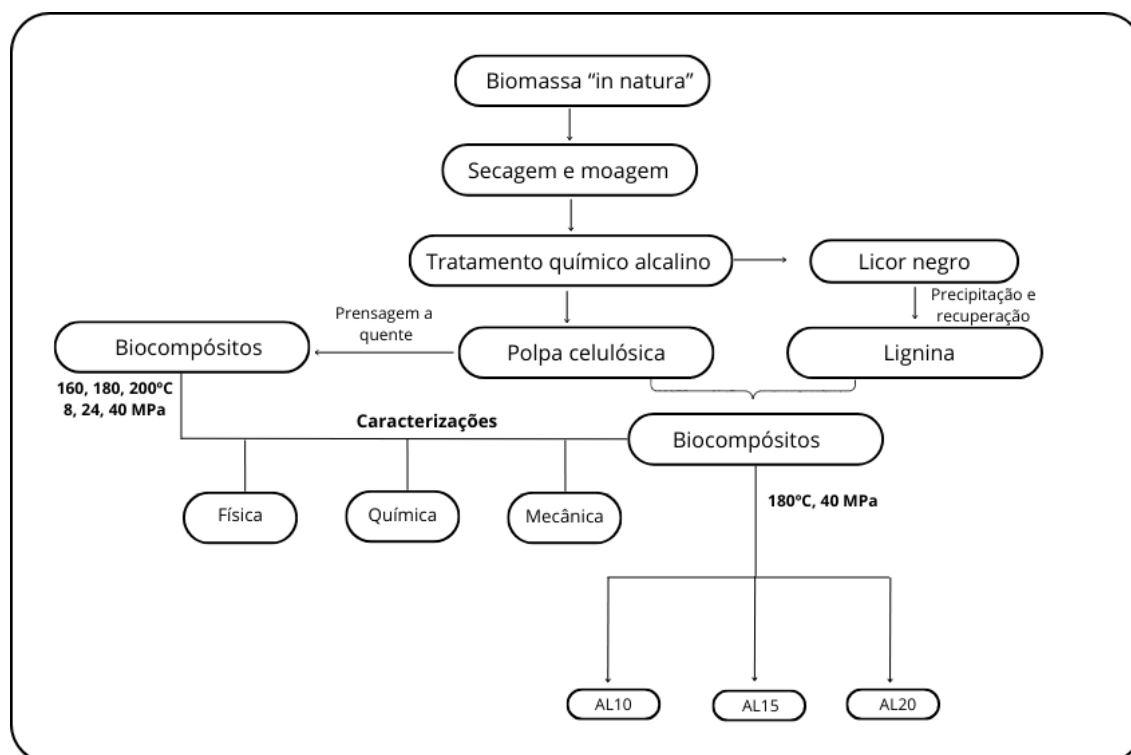


Figura 9 - Diagrama esquemático para a fabricação dos biocompósitos sem ligantes gerados a diferentes temperaturas (160, 180, 200°C) e pressão operacional (8, 24 e 40 MPa) por 20 minutos (a) e biocompósitos gerados com adição de lignina alcalina (10, 15 e 20%) (b)

Fonte: Elaborada pela Autora (2025)

4.15 Incorporação de lignina nos biocompósito

O efeito da adição de diferentes proporções de lignina alcalina (10, 15 e 20% em relação à massa da polpa celulósica) nas propriedades dos biocompósitos foi avaliado. O processo iniciou-se com o preparo de uma solução de lignina em 50 mL de acetona, e mantida em banho ultrassônico (Dubesser 756-1) sem aquecimento por 30 minutos para assegurar sua dissolução homogênea. Em seguida, foram adicionados 3 g de polpa celulósica (base seca) à suspensão, que foi mantida sob agitação magnética à temperatura ambiente por 12 horas, promovendo a incorporação da lignina às fibras. Após esse período, a suspensão foi transferida para um molde de alumínio com dimensões de 51 x 51 mm (**Figura 10**), submetida a uma etapa de pré-secagem em forno para remoção do excesso de solvente e, posteriormente, prensada a quente (YLJ-HP60-LD, Zhengzhou – China) a 180°C sob uma pressão de 40 MPa

durante 20 minutos (**Figura 10**), resultando na formação do biocompósito. O biocompósito produzido a partir da polpa celulósica é chamado de AL_z, onde z representa a proporção de lignina incorporada.



Figura 10 - Molde de alumínio e máquina de prensagem à quente para produção dos biocompósitos.

Fonte: Elaborada pela Autora (2025)

4.16 Caracterização dos biocompósitos

As propriedades de densidade e resistência à flexão dos biocompósitos foram avaliadas de acordo com a Norma Nacional Chinesa GB/T 17657-2013 (método de teste usual para avaliar as propriedades de painéis convencionais à base de madeira). Para a caracterização dos biocompósitos produzidos em diferentes condições, inicialmente, eles foram acondicionados em um dessecador com umidade relativa controlada de $65 \pm 5\%$ e temperatura de 25 ± 1 °C. Os materiais permaneceram no dessecador até atingirem peso constante, garantindo a estabilização das amostras. Após esse processo, os biocompósitos estavam prontos para a realização dos testes subsequentes.

4.16.1 Caracterização Física

4.16.1.1 Densidade

A densidade (d) dos biocompósitos foi determinada com base em seu peso e volume finais. Após a estabilização da massa dos biocompósito, o peso foi medido em uma balança analítica (A&D GH-252, Tóquio - Japão). O volume foi calculado a partir da espessura do biocompósito, medida com um paquímetro digital eletrônico com resolução de 0,01 mm em três diferentes pontos da amostra, garantindo precisão e representatividade nas medições. Em seguida, a densidade foi determinada com base na Equação 14.

$$d = \frac{m}{v} \quad (14)$$

4.16.1.2 Resistência à água

O inchamento em espessura (TS) e a absorção de água (WA) são especificações de qualidade importantes para biocompósitos. Para esses testes, os corpos de prova foram cortados a laser em dimensões de 50 mm x 8 mm e imersas em água destilada à temperatura ambiente e mantidos por diferentes períodos de tempo, com os corpos de prova posicionados a aproximadamente 30 mm abaixo da superfície da água [157]. Em seguida, as amostras foram removidas, secas delicadamente com um papel toalha para remoção do excesso de água e em seguida, as massas e espessuras das amostras foram medidas utilizando uma balança analítica e paquímetro digital, respectivamente. Cada medida foi realizada pelo menos três vezes e o valor médio foi considerado. As Equações 15 e 16 utilizadas para a determinação desses parâmetros são apresentadas a seguir [194]:

$$TS(\%) = \frac{Espessura_{final} - Espessura_{inicial}}{Espessura_{inicial}} \times 100 \quad (15)$$

$$WA(\%) = \frac{massa_{final} - massa_{inicial}}{massa_{inicial}} \times 100 \quad (16)$$

4.16.1.3 Medição do ângulo de contato

O ângulo de contato dos biocompósitos foi medido utilizando um tensiômetro óptico de fluxo Theta (Biolin ThetaFlex Drop Shape Analyzer, Estocolmo - Suécia) localizado no Central Analytical Research Facility (CARF) situado na Queensland University of Technology (QUT). Para a análise, um corpo de prova aproximadamente 10 x 10 mm foi fixada na plataforma do tensiômetro óptico. A plataforma ajustável foi posicionada de forma que a superfície da amostra fosse perfeitamente capturada pela câmera, devidamente conectada e alinhada ao sistema. Em seguida, um volume fixo de água (~5 µL) foi automaticamente aspirado por meio de um tubo capilar e depositado lentamente, de forma perpendicular, sobre a superfície da amostra [195]. O ângulo de contato da gota de água foi registrado utilizando o *software* OneAttension versão 4.1.2. Durante o experimento, o ângulo de contato nos lados esquerdo e direito da gota em relação à linha de base foi monitorado. Observou-se que esses valores variam com o tempo até estabilizarem após alguns segundos. As medições foram realizadas em intervalos de tempo distintos, sendo cada biocompósito avaliado pelo menos três vezes em diferentes regiões da amostra. Os resultados obtidos foram utilizados para calcular o valor médio do ângulo de contato e seu desvio padrão.

4.16.1.4 Morfologia de superfície

A análise da superfície dos biocompósitos foi realizada por meio de microscopia eletrônica de varredura por emissão de campo (FE-SEM Zeiss Sigma VP, Oberkochen - Alemanha) localizado no Central Analytical Research Facility (CARF) situado na Queensland University of Technology (QUT). Para isso, uma pequena porção do biocompósito foi cortada, fixada em um suporte de amostra com fita de carbono e revestida com uma fina camada de ouro por pulverização catódica, a fim de torná-la condutora. A amostra revestida foi então colocada na câmara do equipamento, sob resfriamento com nitrogênio líquido. Durante a aquisição das imagens, a voltagem foi ajustada para 3,00 kV, e diferentes ampliações foram utilizadas para capturar a morfologia em diversas regiões da amostra [192].

4.16.2 Caracterização química

4.16.2.1 Determinação de lignina e cinzas

A caracterização química dos biocompósitos, em termos de lignina e cinzas, foi realizada conforme descrito no item 4.3. Essa etapa é fundamental para determinar a incorporação real de lignina nos biocompósitos. Para a análise, os biocompósitos produzidos foram desintegrados utilizando um moinho de bolas (Benchmark BeadBlaster 96, New Jersey - EUA) operando a uma frequência 30 Hz por um período total de 60 segundos, resultando em partículas uniformemente pulverizadas, adequadas para as etapas subsequentes de caracterização química.

4.16.2.2 Estudo dos grupos funcionais

A análise dos grupos funcionais de superfície presentes nos biocompósitos, bem como nas biomassas “in natura” e pré-tratadas, foi realizada por espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR, NETZSCH STA 449F3, Selb - Alemanha) localizado no Central Analytical Research Facility (CARF) situado na Queensland University of Technology (QUT). Para as biomassas, utilizaram-se partículas previamente pulverizadas. Já para os biocompósitos, pequenas amostras foram recortadas de modo a se adequar ao compartimento de leitura do equipamento. As análises foram realizadas na faixa de número de onda de 4000-400 cm^{-1} .

4.16.2.3 Propriedades mecânicas: Módulo de elasticidade (MOE) e módulo de ruptura (MOR)

As propriedades de flexão em três pontos foram avaliadas utilizando uma máquina de ensaio mecânico (Tytron 250 Microforce Testing System, Minnesota - EUA) localizado no Central Analytical Research Facility (CARF) situado na Queensland University of Technology (QUT), equipada com uma célula de carga de 250 N e configurada com uma distância entre os suportes de 50 mm (**Figura 11**). Este método permitiu determinar a resistência à flexão, também conhecida como módulo de ruptura (MOR), dos biocompósitos e o módulo de flexão. O ensaio foi conduzido

com uma velocidade de teste de 5 mm.min⁻¹. As dimensões dos corpos de prova foram padronizadas em 50 mm × 8 mm [177], enquanto a espessura foi medida na região central dos corpos de prova utilizando um paquímetro digital eletrônico com resolução de 0,01 mm. Os valores de espessura registrados variaram entre 1,6 mm e 2,5 mm. Para garantir a reprodutibilidade dos resultados, pelo menos quatro corpos de prova foram testados para cada biocompósito, e a média dos resultados foi reportada. A resistência à flexão (σ) e o módulo de flexão foram calculados com base nas Equações 17 e 18:

$$\sigma = \frac{3FL}{2bd^2} \quad (17)$$

$$Ef = \frac{L^3m}{4bd^3} \quad (18)$$

Onde F representa a carga axial (força, MPa) aplicada no ponto de ruptura, L (mm) é a distância entre os suportes, b é a largura do corpo de prova (mm) e d corresponde à profundidade ou espessura do material testado (mm) e m é a inclinação da reta.

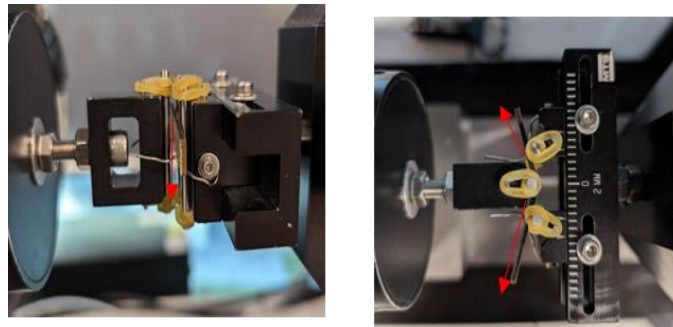


Figura 11 - Corpo de prova antes e depois do ensaio de flexão utilizando máquina de ensaio mecânico (Tytron 250 Microforce Testing System).

4.16.2.4 Análise termogravimétrica (TGA-DTG)

No processo de fabricação dos biocompósitos foram atingidas altas temperaturas. Por essa razão, a estabilidade térmica e a temperatura de degradação da polpa celulósica, lignina, biomassa “in natura” e biocompósitos foram analisadas.

A análise termogravimétrica (TGA) foi conduzida utilizando um analisador térmico gravimétrico (Netzsch STA 449F3 Jupiter Simultaneous Thermal Analyser, Selb - Alemanha) localizado no Central Analytical Research Facility (CARF) situado na Queensland University of Technology (QUT) para avaliar o comportamento térmico, a estabilidade térmica e as etapas de decomposição dos biocompósitos em condições inertes. O gás nitrogênio foi empregado como gás de arraste. Aproximadamente 70 mg de partículas desintegradas do biocompósito, biomassa “in natura”, polpa celulósica e lignina foram utilizadas em cada ensaio. As amostras foram aquecidas a uma taxa de $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, com fluxo de gás ajustado para $25\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. O intervalo de temperatura aplicado às amostras variou de $45\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $800\text{ }^{\circ}\text{C}$ [192].

4.17 Análise Estatística

O teste de contraste de médias de Tukey foi realizada para avaliar a significância estatística das condições experimentais específicas para os dados obtidos da taxa de produção de lipídios (Q_P) e propriedades mecânicas dos biocompósitos. Valores de $< 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos. As análises foram realizadas usando o software Statistica (versão 10.0 StatSoft Inc., 2015).

5. RESULTADOS

Primeiro cenário: Fermentação de açúcares hemicelulósicos para produção de lipídios por *Rhodosporidium toruloides*

5.1 Caracterização da matéria-prima e obtenção do hidrolisado após tratamento com ácido diluído

A **Tabela 5** mostra os resultados obtidos na caracterização da biomassa de cana-de-açúcar: palha e bagaço; e da fração sólida (celulignina) obtida após etapa de tratamento químico com ácido diluído. A partir desses resultados é possível determinar a eficiência de remoção da fração hemicelulósica.

Considerando a biomassa “in natura” caracterizada neste trabalho, os constituintes em maior proporção são celulose, seguido por lignina total e hemicelulose (**Tabela 4**). Durante a análise composicional da biomassa da cana-de-açúcar, observou-se que a celulose (34,63%) era o homopolímero predominante; seguida pela lignina, uma macromolécula polifenólica composta por frações solúveis e insolúveis, totalizando 30,75%. Quanto a hemicelulose (23,22%); estrutura heteropolimérica composta por xilana acetilada e arabinana foi considerada a terceira maior componente da biomassa.

Tabela 4 - Composição química da mistura (1:1) palha e bagaço de cana-de-açúcar e celulignina em estudo e referências

Componentes	Presente trabalho		A	B
Composição química (%m/m)	Palha e Bagaço (1:1)	Celulignina	Mistura	Celulignina
Extrativos	3,13 ± 1,53	-	2,97±0,15	-
Celulose	35,98 ± 0,79	54,03±0,22	41,99±0,21	59,70±2,84
Hemicelulose	24,12 ± 1,03	6,20±0,04	30,25±0,52	3,93±0,30
Lignina Total	31,95 ± 0,65	35,99±0,38	23,74±0,98	29,92±1,39
Cinzas	1,45 ± 0,41	3,30±0,02	3,54±0,14	7,03±1,99
Acetil	3,37 ± 0,38	0,47±0,01	-	0,88±1,24

^AÁvila *et al.* (2018) [196], ^BDionísio *et al.* (2021) [197].

Fonte: Elaborada pela Autora (2024).

Os resultados encontrados diferem ligeiramente ao relatado por Ávila *et al.* (2018) [196], os quais reportaram maiores valores de celulose, hemicelulose e cinzas, porém menores valores de lignina total e extrativos. Vale destacar que os valores obtidos para a composição química da mistura da palha e bagaço não diferem de forma significativa dos resultados obtidos das frações isoladas por outros autores [199,200]. Todas as variações na parede celular das biomassas lignocelulósicas, de modo geral, podem ser atribuídas à origem genética, condições de crescimento, idade, tempo de armazenamento, clima e condições do solo além de condições de cultivo e colheita [13].

Observa-se que a quantidade de celulose e lignina da mistura de palha e bagaço de cana-de-açúcar após a hidrólise ácida tornou-se proporcionalmente maior devido a solubilização e remoção dos açúcares constituintes da hemicelulose. Isto indica que as condições de hidrólise empregadas foram apropriadas para extrair os açúcares contidos na fração hemicelulósica. Os resultados encontrados para os constituintes da celulignina aproximam-se dos relatados por Dionísio e colaboradores (2021), o qual realizaram uma hidrólise ácida diluída com 0,5% de H₂SO₄ a 140°C por 15 minutos. Os autores relataram um teor de hemicelulose de 3,93% e neste trabalho foi de 5,78%. Nota-se uma redução de 75,10% da fração hemicelulósica quando se compara ao teor na biomassa “in natura” e na celulignina.

Durante a reação de hidrólise ácida da biomassa lignocelulósica, ocorre a modificação na composição química e estrutura física da matéria-prima, que irá levar a uma redistribuição da hemicelulose e da lignina. A **Tabela 6** apresenta a composição do hidrolisado hemicelulósico obtido no pré-tratamento com ácido diluído da mistura palha e bagaço de cana-de-açúcar. No líquido obtido, observa-se alta concentração de xilose (26,30 g.L⁻¹) quando comparada a outros açúcares. A concentração de xilose obtida é próxima ao relatado por Dionísio *et al.* (2021) [197] de 25,14 g.L⁻¹.

Tabela 5 - Composição do hidrolisado hemicelulósico da biomassa de cana-de-açúcar

Componentes	Hidrolisado Hemicelulósico da biomassa de cana-de-açúcar (HHC)
Carboidratos	Concentração (g.L⁻¹)
Glicose	3,80
Xilose	26,30
Arabinose	3,58
Açúcares Totais	33,68
Ácido alifático fraco	Concentração (g.L⁻¹)
Ácido acético	3,77
Furanos	Concentração (mg.L⁻¹)
Furfural	4,9
Compostos fenólicos	Concentração (mg.L⁻¹)
Vanilina	1,09
Ac. 2,4-dihidroxibenzoico	23,10
Siringaldeido	403,16
Ácido benzoico	1,92
Ácido gálico	38,05
Ácido caféico	12,26
Fenol	8,86

A reação de hidrólise foi conduzida visando a obtenção de um hidrolisado rico em xilose com quantidades mínimas de produtos de degradação. Foi obtido uma concentração total de açúcares de 33,66 g.L⁻¹ sendo destes 78,10% correspondente a xilose. Os resultados obtidos demonstram que o pré-tratamento com ácido sulfúrico diluído teve um impacto significativo na liberação da fração hemicelulósica. Além de xilose, açúcares como glicose e arabinose também foram observados no hidrolisado.

Um balanço de massa foi conduzido para análise do processo e está apresentado na **Figura 11**. O balanço de massa permite analisar em maiores detalhes a etapa de hidrólise ácida, além dos produtos obtidos e perdas do processo. O balanço do processo tem como dados de entrada (20 kg de biomassa de cana-de-açúcar, 198,4kg de água e 1,8kg de ácido) e as saídas; no qual se obteve cerca de 8,3kg de celulignina e 187,21 kg de hidrolisado hemicelulósico. Ao fim da reação, a mistura foi cuidadosamente filtrada, para a obtenção das frações líquidas e sólidas. A perda média do processo foi de 24,70kg, que equivale a 11,23%.

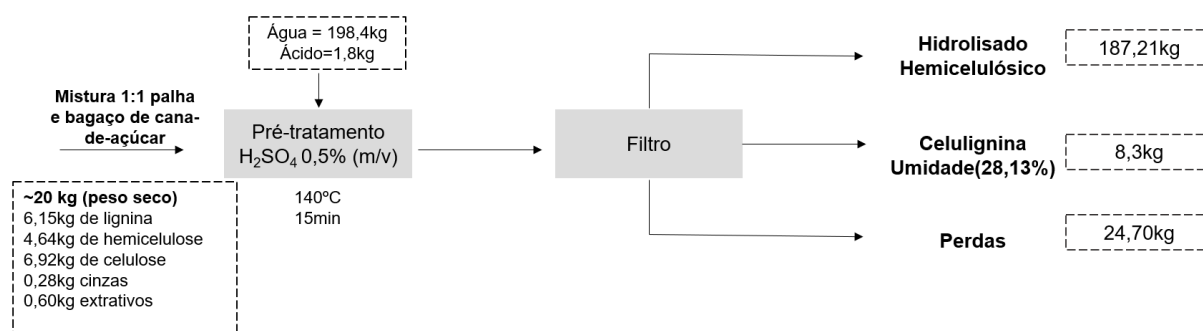


Figura 12 - Balanço de massa para a hidrólise da biomassa de cana-de-açúcar

Fonte: Elaborada pela Autora (2024).

Os produtos de degradação da hidrólise são derivados da biomassa lignocelulósica e resíduos de solventes empregados; todos apresentam mecanismos de inibição em micro-organismos, onde os tipos mais relatados estão associados a atuação na membrana celular, geração de espécies reativas de oxigênio, inibição enzimática, mutagênese no DNA e até mesmo morte celular [105,104]. Dentre os compostos quantificados, houve a formação de ácido acético, derivados furânicos e compostos fenólicos. Em condições ácidas, as pentoses sofrem reações de desidratação com formação de furfural [140], que neste caso foi de 4,9 mg.L⁻¹. Furfural

junto com 5-HMF são os derivados furânicos mais comuns encontrados em hidrolisados de biomassa, além disso apresentam alta toxicidade para vários micro-organismos [109]. O ácido acético trata-se do inibidor em maior concentração encontrada no hidrolisado ($3,77 \text{ g.L}^{-1}$), sendo um ácido alifático formado a partir dos grupos acetil presentes na cadeia lateral da hemicelulose [108], e pode levantar preocupações devido seu potencial de afetar negativamente o metabolismo das pentoses das leveduras, especialmente em pH mais ácido [200]. Por fim, os compostos fenólicos são liberados da estrutura complexa da lignina durante as etapas de fracionamento da biomassa lignocelulósica; como ácidos, álcoois e aldeídos. Dentre estes, siringaldeído foi o composto em maior concentração ($403,16 \text{ mg.L}^{-1}$), sendo formado pela degradação de álcoois sinapílicos, uma das frações da lignina [109].

5.2 Avaliação do consumo de glicose e xilose como fontes de carbono para produção de lipídios por cepas de *R. toruloides*

5.2.1 Avaliação da assimilação das fontes de carbono e crescimento celular

A etapa de tratamento de hidrólise ácida foi empregada com o objetivo de recuperar os monômeros constituintes presentes na fração hemicelulósica da biomassa de cana-de-açúcar. Os açúcares majoritários obtidos são xilose ($26,30 \text{ g.L}^{-1}$) e glicose ($3,80 \text{ g.L}^{-1}$). Portanto, levando em consideração que cada micro-organismo possui condições específicas de metabolismo e assimilação de fontes de carbono e nitrogênio, é importante a realização de um estudo inicial de triagem para compreender o processo. Assim, foram realizados ensaios com alguns compostos comerciais isolados e de forma conjunta. O objetivo foi avaliar a influência desses compostos na produção de lipídios e compreender a capacidade das cepas de *Rhoposporidium toruloides* de metabolizá-los. A habilidade de crescimento de *R. toruloides* 2781, *R. toruloides* 2882 e *R. toruloides* 2896 assim como o acúmulo de lipídios microbianos em ensaios de batelada em frascos agitados para esta etapa está detalhada na **Tabela 7**.

Todas as cepas apresentaram crescimento nos diversos meios, no entanto nota-se que as diferentes linhagens apresentaram diferentes características metabólicas e padrões de consumo das fontes de carbono empregadas. O padrão de consumo de açúcares nos meios semi-definidos apresentou uma maior variação para a xilose, onde a cepa *R. toruloides* 2896 apresentou maior capacidade de assimilação (41,26%), quando comparado a *R. toruloides* 2781 (30,73%) e *R. toruloides* 2882 (26,54%). Enquanto para a glicose, houve uma menor variação em seu consumo, com uma maior assimilação também para *R. toruloides* 2896 (36,69%), seguido por *R. toruloides* 2781 (34,90%) e para *R. toruloides* 2882 (32,80%).

Tabela 6 - Parâmetros fermentativos para cultivo em batelada de *R. toruloides* adaptada e não-adaptada em diferentes meios de cultivo após 96h de cultivo.

Levedura	C:N	pH _i	pH _f	Biomass <i>f</i> (g.L ⁻¹)	Consumo de C (%)	Acúmulo de lipídio % (m.m ⁻¹)	Y _{x/s} (g.g ⁻¹) ^a
C5							
<i>R. toruloides</i> 2781	32	4,68±0,01	3,03±0,01	7,09±0,09	30,74±0,45	3,92±0,690	0,366±0,021
<i>R. toruloides</i> 2882	32	5,03±0,00	3,54±0,00	7,30±0,15	26,54±0,87	4,87±0,770	0,428±0,254
<i>R. toruloides</i> 2896	32	5,16±0,00	4,46±0,02	11,44±0,33	41,26±0,98	4,69±0,350	0,492±0,012
C6							
<i>R. toruloides</i> 2781	32	4,99±0,00	2,57±0,07	10,86±0,49	34,91±0,23	6,16±0,590	0,493±0,067
<i>R. toruloides</i> 2882	32	5,27±0,01	3,03±0,04	10,92±0,07	32,81±0,19	7,42±0,506	0,571±0,458
<i>R. toruloides</i> 2896	32	5,22±0,00	2,69±0,06	9,74±0,38	36,69±0,49	6,70±0,177	0,432±0,039
MGX							
<i>R. toruloides</i> 2781	21,8	5,04±0,01	2,75±0,05	10,75±0,25	64,12±0,23	6,49±0,210	0,403±0,067
<i>R. toruloides</i> 2882	21,8	5,30±0,01	2,87±0,06	10,99±0,60	52,33±0,65	4,61±0,068	0,571±0,064
<i>R. toruloides</i> 2896	21,8	5,20±0,00	2,80±0,05	11,37±0,43	68,12±0,91	4,52±0,314	0,437±0,023
MGXAc							
<i>R. toruloides</i> 2781	21,8	5,38±0,01	7,50±0,07	6,85±0,21	47,06±0,67	6,25±0,096	0,399±0,076
<i>R. toruloides</i> 2882	21,8	5,46±0,00	7,59±0,04	7,45±0,22	44,21±0,87	3,50±0,118	0,494±0,012
<i>R. toruloides</i> 2896	21,8	5,50±0,01	7,71±0,01	7,36±0,02	42,00±0,63	4,13±0,42	0,387±0,653
Não-adaptada HHBCA							
<i>R. toruloides</i> 2781	18,2	5,22±0,00	4,99±0,00	2,16±0,17	10,00±0,02	4,60±1,04	0,035±0,010
<i>R. toruloides</i> 2882	18,2	5,22±0,00	7,30±0,05	9,45±0,10	24,00±0,17	3,50±0,87	0,301±0,004
<i>R. toruloides</i> 2896	18,2	5,21±0,00	5,08±0,00	2,70±0,08	8,18±0,02	3,27±0,17	0,428±0,02
Adaptadas HHBCA							
<i>R. toruloides</i> 2781	18,2	5,46±0,04	7,38±0,02	14,39±0,60	83±0,72	7,0±0,22	0,460±0,250
<i>R. toruloides</i> 2882	18,2	5,42±0,01	7,48±0,02	17,87±1,20	93,31±0,96	8,80±0,68	0,595±0,080
<i>R. toruloides</i> 2896	18,2	5,41±0,01	7,40±0,01	17,03±0,19	82±0,15	9,30±0,36	0,730±0,00

Tabela 7 - Análise comparativa dos parâmetros fermentativos das cepas de *R. toruloides* adaptada e não-adaptada em diferentes meios de cultivo após 96h de cultivo.

Levedura	Q_P (mg.L ⁻¹ .h ⁻¹) ^c	Q_x (mg.L ⁻¹ .h ⁻¹) ^d	μ (h ⁻¹) ^e	r_s (g.L ⁻¹ .h ⁻¹) ^f	r_{aa} (g.L ⁻¹ .h ⁻¹) ^g
C5					
<i>R. toruloides</i> 2781	3,008±0,159 ^I	0,063±0,001	0,019±0,000	3,450±0,000	-
<i>R. toruloides</i> 2882	3,706±0,584 ^I	0,064±0,002	0,019±0,000	2,981±0,001	-
<i>R. toruloides</i> 2896	5,595±0,4169	0,104±0,03	0,024±0,000	4,250±0,001	-
C6					
<i>R. toruloides</i> 2781	0,059±0,0057 ^{II}	0,099±0,005	0,023±0,001	4,019±0,000	-
<i>R. toruloides</i> 2882	0,071±0,0048 ^{II}	0,102±0,001	0,024±0,001	3,577±0,000	-
<i>R. toruloides</i> 2896	0,072±0,0019 ^{II}	0,104±0,003	0,022±0,000	3,991±0,002	-
MGX					
<i>R. toruloides</i> 2781	0,064±0,0021	0,097±0,003	0,023±0,000	4,808±0,003	-
<i>R. toruloides</i> 2882	0,044±0,0006 ^{IV}	0,102±0,006	0,024±0,000	3,570±0,001	-
<i>R. toruloides</i> 2896	0,041±0,0029 ^{IV,V}	0,107±0,004	0,024±0,000	5,931±0,000	-
MGXAc					
<i>R. toruloides</i> 2781	0,095±0,0015	0,058±0,002	0,018±0,000	2,931±0,000	0,444±0,006
<i>R. toruloides</i> 2882	0,071±0,004 ^{III}	0,066±0,002	0,019±0,000	2,664±0,002	0,436±0,004
<i>R. toruloides</i> 2896	0,052±0,006 ^{III,IV,V}	0,066±0,002	0,019±0,000	3,429±0,000	0,473±0,001
Não-adaptada HHBCA					
<i>R. toruloides</i> 2781	1,028±0,2344 ^{VI}	0,009±0,002	-	0,329±0,003	0,042±0,010
<i>R. toruloides</i> 2882	3,400±0,852 ^{VI}	0,079±0,001	0,021±0,000	0,428±0,000	0,346±0,004
<i>R. toruloides</i> 2896	0,919±0,048 ^{VI}	0,011±0,001	-	0,046±0,000	0,017±0,006
Adaptadas HHBCA					
<i>R. toruloides</i> 2781	11,628±0,42	0,137±0,006	0,027±0,000	1,798±0,001	0,280±0,013
<i>R. toruloides</i> 2882	16,328±1,26 ^{VII}	0,170±0,013	0,029±0,001	2,665±0,002	0,404±0,010
<i>R. toruloides</i> 2896	16,583±0,63 ^{VII}	0,162±0,002	0,029±0,001	2,2113±0,002	0,335±0,006

As letras substituídas (I, II, III, IV, V, VI e VII) representam o teste de Tukey ($\alpha = 5\%$) para comparações múltiplas entre C5–C6, MGX-MGX e não adaptado-adaptado. ^aRendimento de biomassa para carboidrato, ^bRendimento de lipídio para carboidrato, ^cTaxa de produção de lipídio, ^dProdutividade de biomassa, ^eTaxa de crescimento ^fTaxa de consumo de açúcar, ^gTaxa de consumo de ácido acético.

Entre as cepas testadas, apenas *R. toruloides* 2896 apresentou preferência por xilose em relação a glicose, sendo este o ensaio com maior acúmulo de biomassa celular ($11,44 \text{ g.L}^{-1}$) (**Tabela 7**). A concentração celular obtida é similar a relatada por Liu *et al.* (2020) [139] de $12,17 \text{ g.L}^{-1}$ para uma espécie oleaginosa de *L. starkey* em meio semi-definido com xilose como única fonte de carbono, após 120 horas de fermentação. Considerando a utilização de hidrolisado hemicelulósico proposto neste trabalho, este é um comportamento desejável uma vez que a xilose é o monômero presente em maior proporção neste meio [73,193].

Por outro lado, *R. toruloides* 2781 e *R. toruloides* 2882 apresentaram crescimento mais expressivo em glicose ($10,86 \text{ g.L}^{-1}$ *R. toruloides* 2781 e $10,92 \text{ g.L}^{-1}$ *R. toruloides* 2882) quando comparado com os cultivos em xilose ($7,09 \text{ g.L}^{-1}$ *R. toruloides* 2781 e $7,30 \text{ g.L}^{-1}$ *R. toruloides* 2882) (**Figura 12**). Este efeito também pode ser observado no trabalho de Tiukova *et al.* (2019) [136], os quais realizaram ensaios com *R. toruloides* CBS 14 em meios semi-definido com glicose ou xilose como única fonte de carbono e uma maior taxa de crescimento foi observado em substrato a base de glicose ($13,8 \text{ g.L}^{-1}$) em comparação com as células cultivadas em xilose ($11,1 \text{ g.L}^{-1}$), e atribuíram esse comportamento à maior demanda de ATP das células quando cultivada em xilose.

Considerando os cultivos em que foi empregado glicose e xilose como fonte de carbono nas mesmas concentrações ao do HHC (meio MGX), a cepa que apresentou melhor desempenho em termos de concentração celular final foi a *R. toruloides* 2896 ($11,37 \text{ g.L}^{-1}$), após 96 horas de cultivo; seguido por *R. toruloides* 2781 ($10,57 \text{ g.L}^{-1}$) e *R. toruloides* 2882 ($10,99 \text{ g.L}^{-1}$). Por outro lado, no meio em que foi adicionado ácido acético (meio MGXAc) nota-se uma inibição do crescimento para as três cepas, com maior acúmulo de biomassa para *R. toruloides* 2882 ($7,45 \text{ g.L}^{-1}$), seguido por *R. toruloides* 2896 ($7,36 \text{ g.L}^{-1}$) e *R. toruloides* 2781 ($6,85 \text{ g.L}^{-1}$) (**Figura 12**). Este fato é explicado pela capacidade do ácido acético e de outros ácidos alifáticos não dissociados de baixo peso molecular conseguirem difundir-se através da membrana plasmática para o citosol. Devido ao pH intracelular mais elevado, irá resultar no desacoplamento destes ácidos e acúmulo de espécies de ânions intracelulares em níveis potencialmente tóxicos [124,194]. Dados semelhantes foram encontrados por Lopes *et al.* (2020) [126] onde os autores relataram a inibição do crescimento de

R. toruloides CCT 7815 em cultivos com 3,56 g.L⁻¹ de ácido acético, concentração similar ao do hidrolisado utilizado neste trabalho. Neste trabalho os autores utilizaram hidrolisado hemicelulósico de eucalipto (12,19 g.L⁻¹ xilose), para o cultivo da levedura oleaginosa.

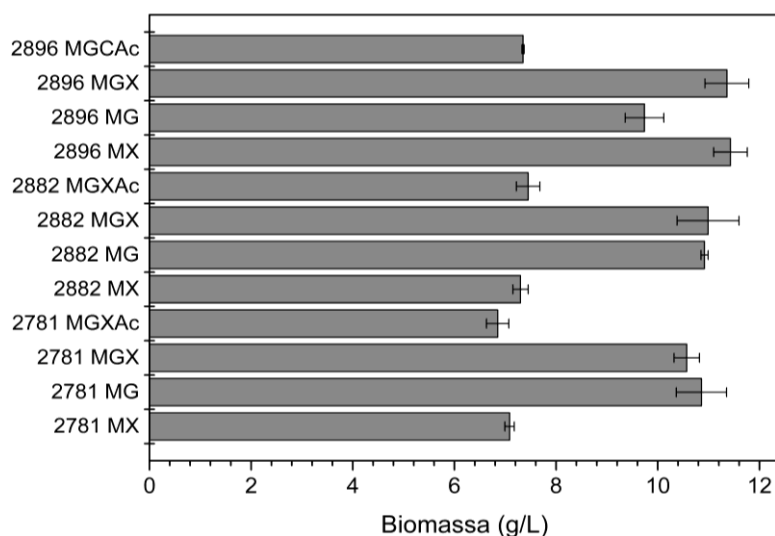


Figura 13 - Concentração celular das cepas de *R. toruloides* a partir de xilose (MX), glicose (MG), glicose/xilose (MGX) e glicose/xilose com adição de ácido acético (MGXAc) após 96h de cultivo.

Fonte: Elaborada pela Autora (2024).

Os resultados mostraram que no cultivo com açúcares misto (xilose/glicose) no meio MGX, uma possível repressão catabólica foi vista, as leveduras consumiram a hexose com uma ordem clara de preferência, sendo consumida próxima da exaustão; este comportamento é evidenciado nas primeiras 24 horas de crescimento, no qual o consumo da glicose correspondeu a 91,03%, 100% e 96,56%, enquanto para xilose correspondeu a 11,16%, 7,41% e 6,63% para *R. toruloides* 2896, *R. toruloides* 2781 e *R. toruloides* 2882; respectivamente (**Tabela 7**). O consumo preferencial de glicose no início do processo fermentativo é importante para o crescimento celular e geração de NADPH, coenzima regenerada a partir da via das pentoses. De forma geral, a glicose é um açúcar preferencial para diversos micro-organismos, sendo consumida mais rapidamente e em maior taxa, enquanto o consumo de xilose é limitado devido o menor poder energético quando consumida pela via das pentoses fostato [136,116,118].

Os dados obtidos indicam a preferência das linhagens de *Rhodosporidium toruloides* por uma fonte de carbono específica, evidenciando uma hierarquia na utilização dos açúcares. Esta distinção é fundamental para compreender os mecanismos metabólicos envolvidos e otimizar estratégias para a bioconversão eficiente desses substratos. No meio semi-definido contendo ácido acético (meio GXAc), observa-se um comportamento similar, em que o consumo de xilose se inicia apenas após 24 horas, após a exaustão da glicose. As taxas de consumo de xilose foram de 64,12%, 56,20% e 42,26% para *R. toruloides* 2896, *R. toruloides* 2781 e *R. toruloides* 2882; respectivamente (**Figura 13**).

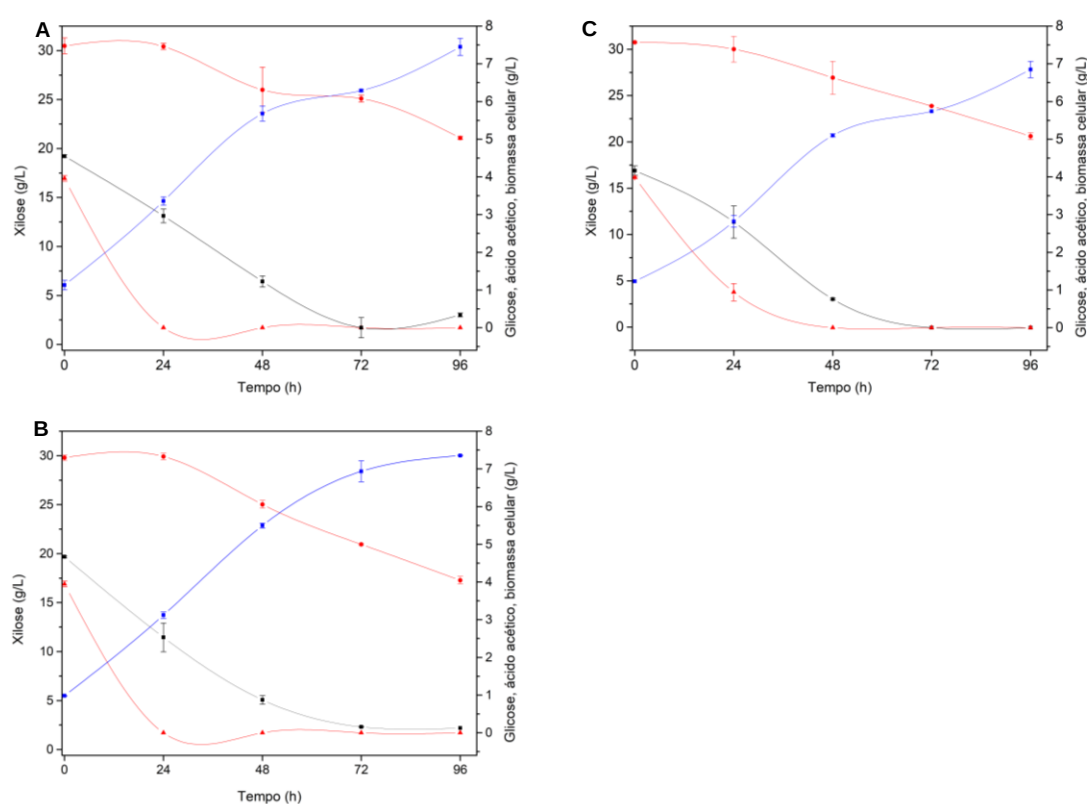


Figura 14 - Fermentação em meio semi-definido com glicose, xilose e ácido acético (MGXAc) por (A) *R. toruloides* 2882 e (B) *R. toruloides* 2896 e (C) *R. toruloides* 2781 em 28 °C e 200 rpm. -▲- glicose, -●- xilose, -■- ácido acético, -■- biomassa celular

Fonte: Elaborada pela Autora (2024).

Estes resultados podem ser corroborados com estudos realizados por Singh *et al.* (2018) [137] em que foi observado um crescimento “triáuxico” entre glicose, xilose e glicerol, em que a glicose foi metabolizada preferencialmente e em maior velocidade, com um consumo em menor taxa e velocidade para as

fontes secundárias empregadas. No estudo de Singh, *et al.* (2018) [137] utilizaram resíduos coletados em uma casa de sucos (cascas de laranja, limão doce, banana, manga, vagens de ervilha e tocos de couve-flor/repolho) para conversão de um meio de fermentação. O meio utilizado continha 20 g.L⁻¹ de açúcares totais, compreendendo 48,55% de glicose, 30,9% de xilose e 20,4% de glicerol, além de quantidades menores de arabinose. A cepa de *R. toruloides* utilizou eficientemente mais de uma fonte de carbono para crescimento (18 g.L⁻¹) e formação de lipídios (74,5%). Este fenômeno é caracterizado por fases distintas de crescimento separadas por uma fase *lag*, onde na primeira fase ocorre o metabolismo do açúcar preferencial disponível, que resulta em um rápido crescimento. Finalizada esta fase, o micro-organismo entra em uma segunda fase *lag* para troca do metabolismo para o segundo açúcar disponível [203]. Resultados semelhantes foram relatados por Yamada *et al.* (2017) [7] onde observaram em um meio semi-definido (8 g.L⁻¹ de extrato de levedura, 50 g.L⁻¹ de glicose, 25 g.L⁻¹ de xilose e 4 mg.L⁻¹ de FeSO₄) a repressão catabólica causada pela glicose para cepas de *R. toruloides* 87663-11C e seu mutante 87663-11C 2-53C, onde o metabolismo do açúcar secundário (xilose) apenas iniciou quando o açúcar preferencial foi extinguido após 48h de fermentação. Os cultivos foram mantidos até 168h, momento em que o consumo de xilose aproximou-se da totalidade.

A cepa com melhor desempenho no meio MGX foi a *R. toruloides* 2896 com consumo total de açúcares de 68,12%, seguida de *R. toruloides* 2781 com consumo de 64,12% e por fim *R. toruloides* 2882 com consumo de 52,33%; ao final de 96 horas de fermentação. Por outro lado, com adição de ácido acético o consumo total de açúcares foi reduzido para 47,06; 44,21 e 42% para *R. toruloides* 2781, *R. toruloides* 2882 e *R. toruloides* 2896, respectivamente. Vale destacar que estas leveduras foram testadas anteriormente por Lopes (2015) para consumo de celobiose (0,5% p/v), entretanto ainda não haviam sido investigadas em hidrolisados hemicelulósicos para produção de lipídios microbianos.

Na **Tabela 8** apresenta os coeficientes do processo fermentativo, fornecendo parâmetros cinéticos essenciais para a compreensão do comportamento das cepas no meio de cultivo. Os dados obtidos nos cultivos em meio semi-definido C5 e C6 permitem avaliar a eficiência da conversão dos

substratos em biomassa. O rendimento de biomassa em carboidrato ($Y_{X/S}$) foi superior para *R. toruloides* 2896 ($Y_{X/S} = 0,492$) no meio contendo xilose, enquanto *R. toruloides* 2882 apresentou o melhor desempenho no meio com glicose ($Y_{X/S} = 0,571$). Esses resultados indicam diferenças metabólicas entre as linhagens, sugerindo que a escolha do substrato pode influenciar significativamente a eficiência do processo fermentativo.

5.2.1 Avaliação do acúmulo de lipídios

O acúmulo de lipídeos pelas leveduras nos três meios semi-definidos após 96 horas de cultivos foi avaliado; os resultados estão descritos na **Tabela 7** e representado pela **Figura 14**. O acúmulo de lipídios variou com as diferentes leveduras e fontes de carbono. Dentre os meios semi-definidos, a maior concentração lipídica foi obtida por *R. toruloides* 2882 (7,42% m.m⁻¹) em meio C6. Por outro lado, quando considerado o meio com duas fontes de carbono (Meio GX), a cepa com maior acúmulo de lipídeos foi a *R. toruloides* 2781 (6,49% m.m⁻¹); enquanto as duas outras leveduras apresentaram acúmulos similares de 4,61 e 4,52% m.m⁻¹ para *R. toruloides* 2882 e *R. toruloides* 2896; respectivamente.

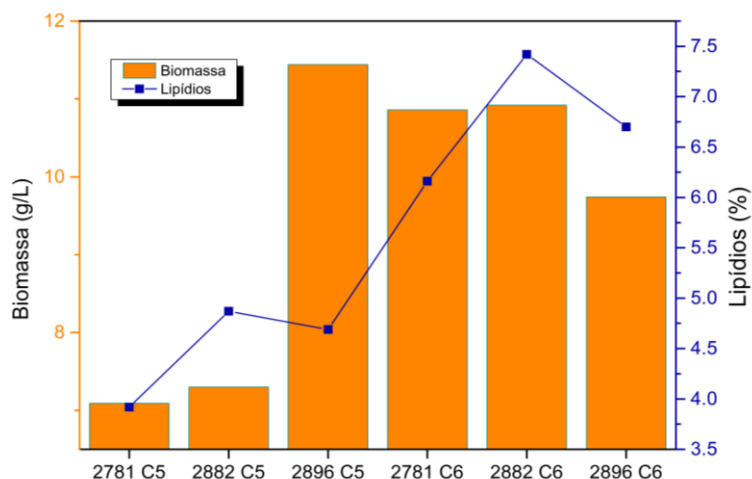


Figura 15 - Acúmulo de lipídios por diferentes cepas de *R. toruloides* utilizando C-5 e C-6 como substrato

Fonte: Elaborada pela Autora (2024).

Os resultados obtidos com as leveduras em glicose (meio G) foram superiores aos descritos por Liu *et al.* (2020) [139] que também realizaram

cultivos de cepas de *R. toruloides* NRRL Y-1091 em meio semi-definido com glicose como fonte de carbono (50 g.L^{-1}), e avaliaram o acúmulo de lipídios em C:N de 25, 50 e 100, no qual obtiveram 6,16; 6,61 e 20,81% de lipídios, respectivamente, em 120 horas de fermentação. Estes resultados evidenciam o melhor desempenho das cepas empregadas neste trabalho (C:N 32), quando considerado o C:N de 50 em Liu *et al.* (2020) [139]. Neste trabalho, em 96 horas de cultivo em meio semi-definido com glicose como fonte de carbono, acumularam 6,16; 7,42 e 6,70 $\text{m.m}^{-10}\%$ de lipídios para as cepas de *R. toruloides* 2781, *R. toruloides* 2882 e *R. toruloides* 2896; respectivamente (**Tabela 7**). O teste de Tukey para produtividade lipídica não indicou diferença significativa entre a cepa *R. toruloides* 2896 e as outras cultivadas em glicose (*R. toruloides* 2781 e *R. toruloides* 2882). No entanto, uma diferença significativa foi observada quando comparado com os ensaios conduzidos em xilose para as mesmas cepas.

Considerando os testes em meio com xilose como única fonte de carbono, o acúmulo de lipídios foi similar entre as cepas testadas, sendo ligeiramente maior para *R. toruloides* 2882 ($4,87\% \text{ m.m}^{-1}$) seguido por *R. toruloides* 2896 ($4,69\% \text{ m.m}^{-1}$) e *R. toruloides* 2781 ($3,92\% \text{ m.m}^{-1}$). A análise estatística da produtividade lipídica em ensaios de xilose mostrou que *R. toruloides* 2896 exibiu diferenças significativas quando comparado a *R. toruloides* 2882 e *R. toruloides* 2781 ($p < 0,05$). Os resultados são similares ao reportado por Liu *et al.*, (2020) em um C:N de 50, onde a produção de óleo microbiano foi de 4,12%. Tanto *R. toruloides* 2882 quanto *R. toruloides* 2896 demonstraram resultados superiores em comparação às descobertas de Liu *et al.* (2020) [139]. Por fim, quando adicionado ácido acético ao meio, notou-se maior variação nas concentrações lipídicas alcançadas, com uma concentração de $6,25\% \text{ m.m}^{-1}$ para *R. toruloides* 2781, enquanto *R. toruloides* 2882 e *R. toruloides* 2896 acumularam 3,50 e $4,13\% \text{ m.m}^{-1}$; respectivamente.

No meio com duas fontes de carbono (meio GX), *R. toruloides* 2781 exibiu o maior acúmulo de lipídios (6,49%), enquanto *R. toruloides* 2882 e *R. toruloides* 2896 mostraram acúmulos semelhantes de 4,61% e 4,52%, respectivamente. Resultados semelhantes foram observados no meio MGXAc, com o melhor desempenho visto em *R. toruloides* 2781. O teste de Tukey revelou uma

diferença significativa entre *R. toruloides* 2781 em MGXAc e as outras cepas em ambos os meios ($p < 0,05$).

A condição de limitação de nutrientes e a alta disponibilidade de carbono é a condição primordial para que ocorra o acúmulo de lipídios intracelulares nas células. Uma vez que ocorre a exaustão de nutrientes como nitrogênio e fósforo, as células encontram-se em déficit nutricional para continuar a crescer e multiplicar; desta forma a fonte de carbono excedente no meio é canalizada para produção e armazenamento de triacilglicerol. Concomitante a isso, está ainda as reações de β -oxidação em sentido inverso, que levam a transformação de acetil-CoA em ácidos graxos intracelulares [140,196,197].

5.3 Cultivos em Hidrolisado Hemicelulósico de biomassa de cana-de-açúcar (HHC)

5.3.1 Avaliação da adaptação das cepas de *R. toruloides*

Hidrolisados de biomassa obtidos a partir de etapas de pré-tratamento químico contém em sua maioria uma mistura de compostos de degradação advindos dos constituintes estruturais da biomassa lignocelulósica que se comportam como componentes tóxicos aos micro-organismos durante o processo fermentativo [108]. Portanto, a estratégia de adaptação consistiu no emprego do HHC não-destoxificado como meio de cultura para as três diferentes cepas de leveduras de *R. toruloides*. O pressuposto empregado para os experimentos de adaptação neste trabalho parte do princípio de que a cada ciclo de passagem das leveduras (incremento de 10% de HHC a cada 24 horas), ocorra a melhora da capacidade das cepas de crescer na presença de uma concentração aumentada de inibidores de forma simultânea presente no meio.

O hidrolisado utilizado para a adaptação deve conter uma faixa adequada de compostos tóxicos, de modo que o micro-organismo aumente sua tolerância a esses compostos. Isso é suficiente para promover uma pressão seletiva no meio, permitindo a adaptação gradual da cepa. A pressão seletiva ocorre devido à combinação de diversas forças que afetam a capacidade de sobrevivência dos organismos em um ambiente específico. Essas forças influenciam tanto o

fenótipo quanto o genótipo, destacando-se em condições específicas do ambiente, fatores biológicos, disponibilidade de nutrientes e competição [206].

Ao término de 11 dias de cultivo em concentrações aumentadas de HHC, todas as cepas foram capazes de crescer em 100% de hidrolisado hemicelulósico suplementado. Estes resultados demonstram o êxito da estratégia aplicada para melhorar a tolerância das leveduras aos inibidores presentes no hidrolisado. A concentração celular atingida no 10º nível de adaptação (100% HHC) foi superior para a cepa *R. toruloides* 2896 (6,78 g.L⁻¹), seguida por *R. toruloides* 2882 (6,31 g.L⁻¹) e *R. toruloides* 2781 (5,37 g.L⁻¹). Observou-se nesses experimentos que o perfil de crescimento e de consumo de açúcares manteve-se estável para as três cepas ao longo das fases de adaptação (**Figura 15**), a razão para este comportamento pode se dar pelo ensaio de fermentação ser renovado a cada 24 horas, não sendo possível a observação de todas as fases do crescimento microbiano.

Durante o período de adaptação, a cepa *R. toruloides* 2882 (**Figura 15a**) mostrou um período em que houve quedas constantes no acúmulo de biomassa celular, tal comportamento aconteceu após o 5º nível de adaptação. Para *R. toruloides* 2781 e *R. toruloides* 2896, esse comportamento não foi evidenciado, sendo percebido apenas após o 9º nível de adaptação. Este comportamento sugere uma diminuição no crescimento e viabilidade celular, que pode estar associado as maiores concentrações de compostos tóxicos presentes no meio a cada novo nível de adaptação, com a morte celular superando a nova formação de células, acarretada pela condição de estresse do meio, que resulta em uma diminuição na concentração celular total.

Em relação ao consumo de açúcares disponíveis no meio, pode-se observar que a cada ciclo de adaptação, com duração de 24 horas, havia-se o esgotamento de glicose; comportando se como uma fonte preferida pelas cepas em relação a xilose, sendo assim sua linha pouco notada nos gráficos. Durante algumas etapas nota-se um consumo mais acentuado da xilose; sendo mais evidente nos níveis 3 e 5 para *R. toruloides* 2882, 2 e 6 para *R. toruloides* 2896, e por fim em 3 e 5 para *R. toruloides* 2781. Esta observação é similar ao encontrado por Díaz *et al.* (2018) [140] que realizaram a adaptação gradativa de *R. toruloides* 0041-12 em hidrolisado de palha de trigo com 103 g.L⁻¹ de açúcares totais (61 g.L⁻¹ de glicose, 42 g.L⁻¹ de xilose), 5,2 g.L⁻¹ de ácido acético,

0,54 g.L⁻¹ de ácido fórmico, 0,10 g.L⁻¹ de furfural, 0,02 g.L⁻¹ de hidroxil-metil furfural e 0,06 g.L⁻¹ de compostos fenólicos. Neste trabalho os autores relataram o consumo aumentado de xilose, sendo as cepas adaptadas mais resistentes e com maior crescimento (30-40%) quando comparado com a cepa não-adaptada.

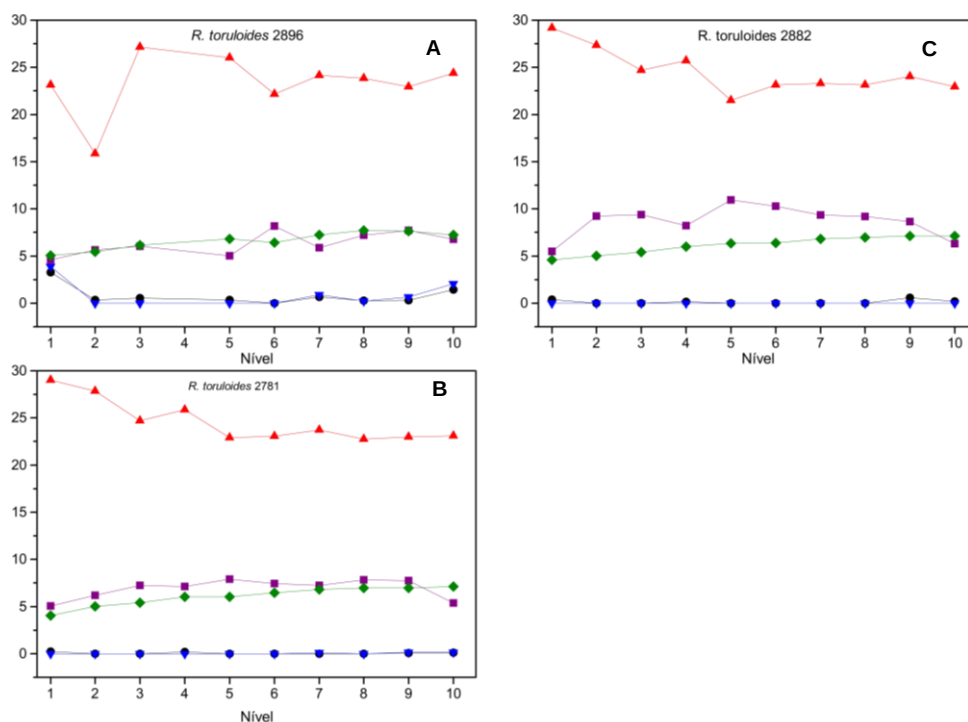


Figura 16 - Perfil temporal do acúmulo de biomassa (-■-) pH (-◆-) e consumo de glicose (-●-), xilose (-▲-) e ácido acético (-▼-) pelas cepas de *R. toruloides* 2882 (A), *R. toruloides* 2896 e *R. toruloides* 2781 (C) durante a fase de adaptação em HHC.

Fonte: Elaborada pela Autora (2024).

Em relação ao pH do meio de cultivo observado durante a fase de adaptação neste trabalho (**Figura 15**), houve pequenas variações durante as 210 horas de fermentação, mantendo-se em entre 4,04 e 7,64.

5.3.2 Fermentação das cepas não-adaptadas e adaptadas de *R. toruloides* em HHC

A capacidade fermentativa das cepas de *Rhodosporidium toruloides* não-adaptadas e adaptadas foram avaliadas através do cultivo em HHC não-destoxificado suplementado (**Figura 16**).

Em relação as cepas não-adaptadas, é possível observar uma fase *lag* até pelo menos 48 horas, onde apenas para *R. toruloides* 2882 nota-se uma fase exponencial (**Figura 16a**), sendo a levedura com maior acúmulo de biomassa celular do que as outras duas em ambos os casos (adaptada e não-adaptada). Enquanto isso, *R. toruloides* 2896 e *R. toruloides* 2781 tiveram um leve acúmulo de biomassa até 72 horas de cultivo, com conseguinte declínio nesta concentração, atingindo biomassa celular inferior a 10 g.L⁻¹. Nota-se que o crescimento dessas cepas foi afetado pela presença de compostos tóxicos presentes no hidrolisado, uma vez que não foram adaptadas previamente a este meio.

O efeito de baixo acúmulo de biomassa de cepas não-adaptadas em meio com hidrolisado lignocelulósico também é observado no trabalho de Liu *et al.* (2021) [207] os quais realizaram fermentações de leveduras não-adaptadas de *R. toruloides* NRRL Y- 1091 em hidrolisado celulósico de palha de trigo, cuja composição (em g.L⁻¹) incluía glicose (40,88), xilose (14,27), ácido acético (1,54), compostos fenólicos totais (1,51), furfural (0,087), ácido levulínico (0,427) e HMF (0,008) e a concentração celular observada não ultrapassou 6,5 g.L⁻¹. Estes autores associaram tal comportamento como um indicativo de baixa disponibilidade de fonte de nitrogênio no hidrolisado empregado, não atendendo desta forma as necessidades para o crescimento da levedura. Entretanto, neste trabalho ambas as fermentações com cepas não-adaptadas e adaptadas foram suplementadas com fontes de N orgânicas e inorgânicas, com uma concentração total de nitrogênio de 4 g.L⁻¹ (2g.L⁻¹ (NH₄)₂SO₄, 2 g.L⁻¹ extrato de levedura) indicando assim que caso não houvesse a suplementação de nitrogênio no meio, a fermentação conduzida com as cepas não-adaptadas teria um desempenho inferior.

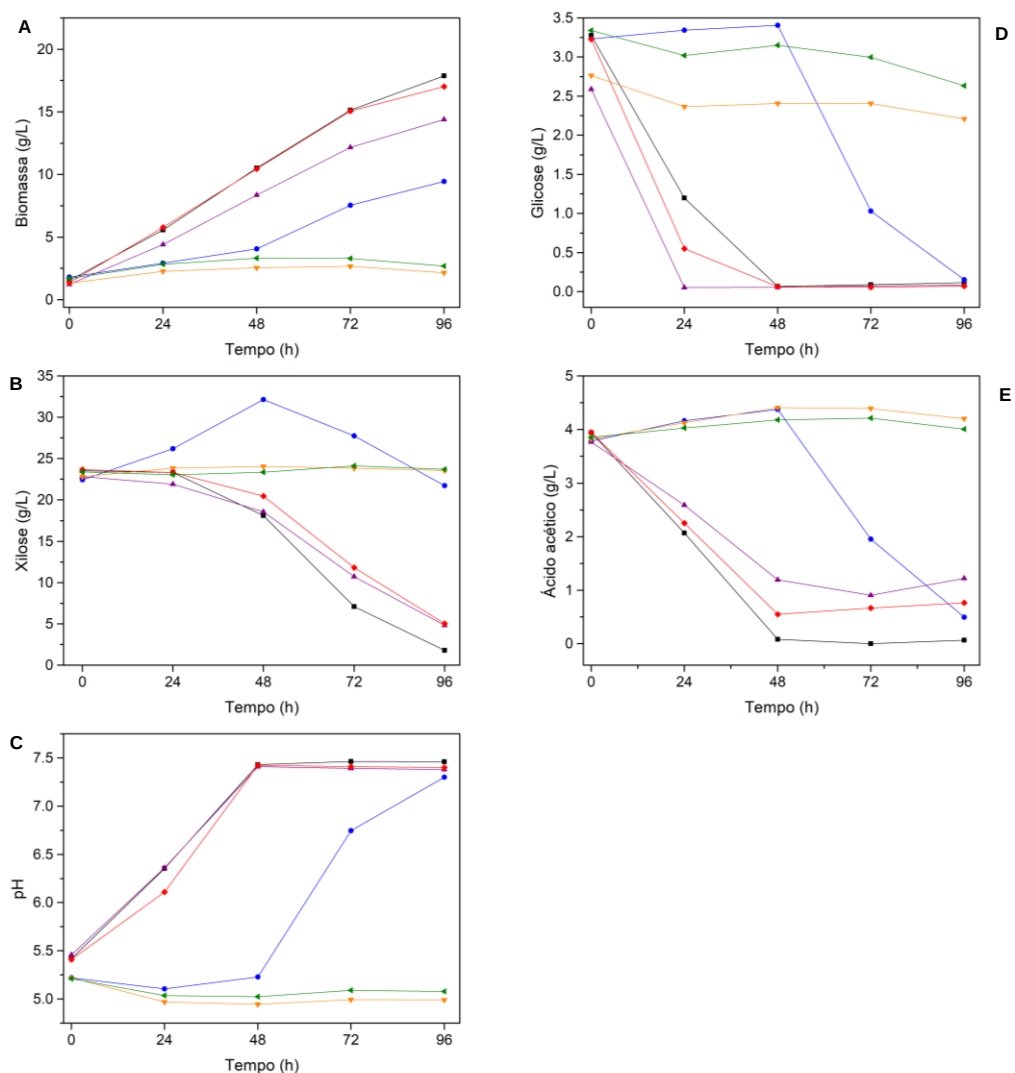


Figura 17 - Consumo de glicose, xilose, ácido acético, crescimento celular e pH das cepas de *R. toruloides* não-adaptadas (-●- *R. toruloides* 2882, -▼- *R. toruloides* 2781, -◀- *R. toruloides* 2896) e adaptadas (-■- *R. toruloides* 2882A, -▲- *R. toruloides* 2781A, -◆-)

Fonte: Elaborada pela Autora (2024).

Já em relação as cepas adaptadas, todas apresentaram uma fase de crescimento exponencial (**Figura 16a**), sendo observado acúmulo de biomassa celular superior para *R. toruloides* 2882A (17,87 g.L⁻¹), seguido por *R. toruloides* 2896A (17,03 g.L⁻¹) e *R. toruloides* 2781A (14,39 g.L⁻¹). Além disso, não foi possível a visualização de uma fase *lag*. Os acúmulos de biomassa atingidos com as cepas adaptadas são comparáveis ao relatado por Saini *et al.* (2022) [116] em cultivos de *R. toruloides* 1588 por 72 horas em frascos agitados com hidrolisado celulósico de madeira não-destoxificado (37,5 g.L⁻¹ de glicose, 2,5

g.L⁻¹ de xilose), e cepas não-adaptadas. No entanto com o emprego de uma razão C:N 70, na qual obtiveram uma concentração de biomassa celular de 15,3 g.L⁻¹.

Além do acúmulo de biomassa, o consumo de açúcares (glicose e xilose) também foi melhorado com as cepas adaptadas (**Figuras 16b e 16d**). Para as cepas não-adaptadas foi de 10%, 24% e 8,18% para *R. toruloides* 2781, *R. toruloides* 2882 e *R. toruloides* 2896, respectivamente. Nota-se que entre as cepas não-adaptadas, somente a *R. toruloides* 2882 foi capaz de consumir de forma significativa a glicose (95,71%). Por outro lado, o consumo de açúcares totais (glicose e xilose) pelas cepas adaptadas foi de 83%, 93,31% e 82% para *R. toruloides* 2781, *R. toruloides* 2882 e *R. toruloides* 2896; respectivamente (**Tabela 8**).

A partir do coeficiente de rendimento de biomassa ($Y_{X/S}$) é possível observar que para as leveduras adaptadas houve um maior rendimento quando comparada com as cepas cultivadas em todos os meios semi-definidos testados, quanto também aos cultivos em HHC com as cepas não-adaptadas. O $Y_{X/S}$ foi superior apenas para a cepa *R. toruloides* 2882 em HHC. Estes resultados indicam o quanto de biomassa celular foi acumulada por substrato consumido.

O consumo de glicose pelas leveduras adaptadas ocorreu até 24 horas, momento este que se extinguiu e deu início ao consumo de xilose, que aconteceu até próximo à exaustão, em 96 horas de cultivo. Este mesmo comportamento foi relatado por Díaz *et al.* (2018) [140] em ensaios de *R. toruloides*. No estudo, os autores realizaram uma análise preliminar do consumo de glicose e xilose em meio sintético definido (5 g.L⁻¹ de glicose e 5 g.L⁻¹ de xilose) antes de cultivá-las em hidrolisado celulósico de palha de trigo (61 g.L⁻¹ de glicose e 42 g.L⁻¹ de xilose). No experimento preliminar, observaram o consumo total da glicose em 12 horas de fermentação. A partir desse momento, iniciou-se o consumo de xilose, resultando em uma concentração residual de 1,3 g.L⁻¹ ao final da fermentação, após 30 horas. No meio com presença de ácido acético (MGXAc), o consumo de xilose só foi iniciado com o esgotamento da glicose, o mesmo é observado quando as cepas adaptadas foram cultivadas em hidrolisado.

A repressão catabólica de carbono causada pela glicose se dá pela inibição dos transportadores e enzimas envolvidas no processo catalítico da via

das pentoses fosfato, e pode ocorrer comumente com glicose, xilose e arabinose por possuírem sistemas em comum de transporte de açúcar na célula; sendo a glicose mais efetiva para geração de energia celular [115], além disso hidrolisados de biomassa apresentam-se como um meio complexo, em que há a presença de diversos açúcares e intermediários de degradação desses compostos. De fato, Singh *et al.* (2018) [137] estudaram o efeito do consumo sequencial de açúcares por leveduras oleaginosas e demonstraram que o metabolismo sequencial irá variar com a cepa e relação C:N, e que este comportamento não irá influenciar na produção de lipídeos. Resultados semelhantes foram relatados por outros autores, onde a glicose inibiu o consumo de xilose [142,137].

O mesmo padrão de consumo aumentado para as cepas adaptadas também ocorreu para o ácido acético (**Figura 16e**). O ácido acético foi consumido pelas leveduras adaptadas como fonte de carbono quase completamente até 48 horas de fermentação, o que coincidiu com o aumento do pH para estas (**Figura 16c**), que iniciaram a fermentação com pH por volta de 5,5 e ao término das 96 horas de cultivo atingiram 7,5. Esta variação também foi notada para a cepa não-adaptada *R. toruloides* 2882, enquanto para as demais não-adaptadas permaneceu quase invariável. O efeito do ácido acético sob as leveduras irá depender do micro-organismo, condições de cultivo e concentração. Zhao *et al.* (2012) [105], por exemplo, relataram inibição total do crescimento de *R. toruloides* AS 2.1389 em uma concentração de 20 g.L⁻¹ de ácido acético. Entretanto, em concentrações inferiores a 15 g.L⁻¹ os autores relataram um consumo total do ácido acético pelas cepas nas fermentações. O mesmo comportamento é observado neste trabalho, em que o ácido acético é praticamente extinguido com 96 horas de fermentação. [105] avaliaram o efeito no crescimento e na produção de biolipídios por leveduras oleaginosas quando cultivadas na presença de diversos compostos típicos de hidrolisados hemicelulósicos de biomassa lignocelulósica, adicionados a um meio com nitrogênio limitado.

Também é possível observar que todas as cepas adaptadas apresentaram acúmulo de biomassa superior em hidrolisado hemicelulósico do que as correspondentes não-adaptadas em meio semi-definido (MGX) (**Figura 10**), os presentes resultados podem ser corroborados com outro estudo

realizado, em que micro-organismos oleaginosos acumularam mais biomassa e tiveram melhor produtividade lipídica em hidrolisados de materiais lignocelulósicos em comparação ao meio semi-definido empregado; e atribuíram o melhor desempenho por estas cepas apresentarem capacidade metabólica dos compostos inibidores presente no meio de cultivo [97].

5.3.3 Inibição e degradação de compostos fenólicos pela levedura *R. toruloides*

Além dos açúcares monoméricos presentes no hidrolisado hemicelulósico, a etapa de pré-tratamento utilizada leva a formação de intermediários derivados dos constituintes da biomassa lignocelulósica, que atuam como inibidores do crescimento microbiano; como furanos, ácidos orgânicos e compostos fenólicos [108].

Neste trabalho, uma diminuição dos compostos fenólicos foi observada em todos os ensaios das leveduras cultivadas em hidrolisado hemicelulósico. Notou-se uma redução dos fenóis totais, sendo mais expressiva para as cepas adaptadas, de 63,79%, 59,94% e 60,06% enquanto para as não-adaptadas nota-se reduções de 29,45%, 57,14% e 43,02 para *R. toruloides* 2896, *R. toruloides* 2882 e *R. toruloides* 2781; respectivamente (**Figura 17**).

Estes componentes são inibidores do processo fermentativo e por se apresentarem em uma variedade disponível (vanilina, siringaldeído, ácido ferúlico, ácido vanílico, dentre outros) torna-se difícil a determinação do mecanismo de ação inibitória provocada por estes, uma vez que podem atuar sozinhos ou de forma sinérgica, além de apresentarem problemas de elucidação dos processos metabólicos envolvidos que resultam no seu consumo por alguns micro-organismos, bem como a determinação de conversão em outros subprodutos [101,137,199]. Kim *et al.* (2022) [106] verificaram uma família de proteínas aldeído desidrogenase em uma cepa de *Yarrowia lipolytica*. Estas proteínas são capazes de catalisar o furfural a ácido furóico, este processo resulta em uma destoxificação nativa nesta espécie de levedura oleaginosa. Resultados semelhantes foram observados em outro trabalho, onde Park *et al.* (2023) [130] observaram a presença de ácido furóico em meios de cultura de *C. curvatus*, *R. toruloides* e *L. Starkeyi*, e atribuíram essa característica a um

sistema de destoxificação nativo semelhante. Tendo em conta os resultados anteriores e os observados neste trabalho, pode ser possível que sistemas de destoxificação sejam comuns em espécies de leveduras oleaginosas.

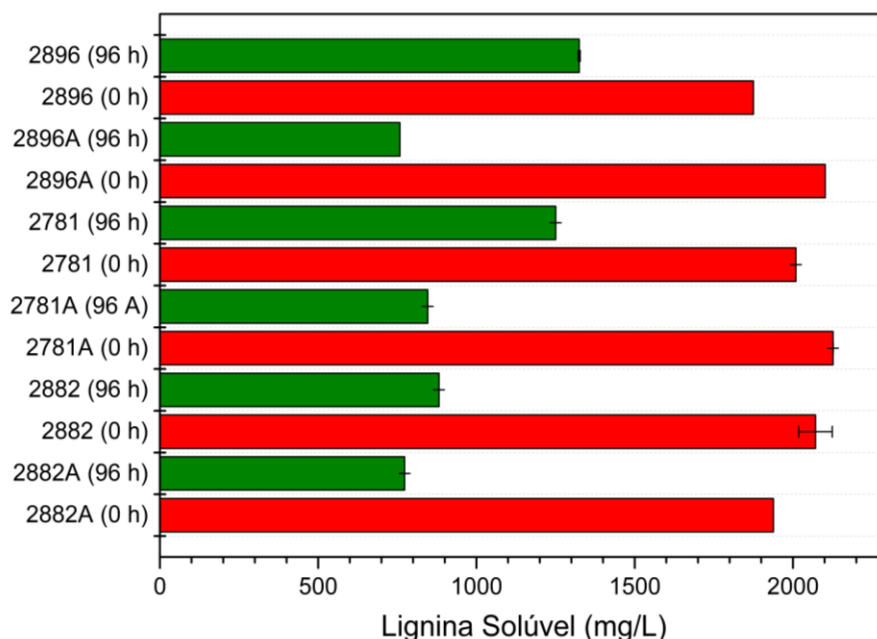


Figura 18 - Degradação de compostos fenólicos por cepas de *R. toruloides* adaptadas e não-adaptadas cultivadas em hidrolisado hemicelulósico. Vermelho: concentração inicial de lignina solúvel; verde: concentração de lignina solúvel com 96 horas de fermentação.

Fonte: Elaborada pela Autora (2024).

No entanto, além de uma grande variedade de compostos advindos da estrutura polifenólica da lignina (fenólicos, aldeídos, aromáticos e poliaromáticos) que são liberados durante o processo de hidrólise, há ainda componentes oriundos da degradação dos açúcares de seis e cinco carbonos, (furfural, 5-HMF, ácido levulínico) que se presente no meio de cultura poderão contribuir negativamente para a performance das leveduras durante o processo fermentativo. Neste trabalho, entre os compostos advindos do processo de desidratação de açúcares é observado a presença de furfural ($4,90 \text{ mg.L}^{-1}$) e em maior concentração ácido acético ($3,77 \text{ g.L}^{-1}$). A presença destes são esperados devido ao tratamento ácido diluído ter como foco a despolimerização da estrutura hemicelulósica da biomassa, sendo composto majoritariamente por açúcares de cinco carbono. Além disso, o furfural não apresentou o mesmo comportamento

de redução dos demais inibidores quantificados como fenóis totais e do ácido acético ao final dos ensaios. Esse comportamento pode ser explicado pela baixa concentração disponível no meio ou pela falta de aparato metabólico das leveduras para seu consumo. Alguns autores mencionam o alto poder inibitório desse componente no processo fermentativo, no entanto em concentrações a partir de 1 g.L^{-1} , com diminuições em até 60% do crescimento celular [105]. Osorio-González *et al.* (2023) [142] relataram a capacidade de *R. toruloides* 1588 de crescer na presença de oito compostos inibitórios microbianos (5-HMF, ácido levulínico, ácido ferúlico, ácido vanílico, vanilina, siringaldeído e ácido aminobenzóico) e de metabolizar furfural. metabolizar compostos furânicos presentes em hidrolisado de madeira não destoxificado. O estudo avaliou a fermentação em hidrolisados de resíduos florestais (*Populus* sp.), testando diferentes proporções de dois hidrolisados com concentrações totais de açúcar de $130,1 \text{ g.L}^{-1}$ e $128,8 \text{ g.L}^{-1}$. Embora a presença de furfural tenha causado um leve efeito inibitório no crescimento microbiano e na produção de lipídios, esse impacto foi atribuído à inibição parcial ou total de enzimas-chave, como a gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GPD). Ainda assim, a levedura oleaginosa demonstrou a capacidade de reduzir o teor de furfural em 90,7% após 96 horas de fermentação, período em que o acúmulo máximo de lipídios foi observado (40%). A concentração inicial mais elevada de furfural nas condições testadas foi de 700 mg.L^{-1} . Finalmente, é observado que a presença dos subprodutos de degradação no hidrolisado causou um efeito inibitório notável nas cepas de *R. toruloides* não-adaptadas, em relação a adaptadas previamente em hidrolisado, este comportamento demonstra a capacidade de destoxificação destas cepas que foram adaptadas gradativamente a este meio de crescimento. As cepas não-adaptadas apresentaram um baixo crescimento celular, que pode ser confirmado na **Tabela 7**, com dados de biomassa final.

5.3.4 Acúmulo de lipídios por cepas de *R. toruloides* adaptadas e não-adaptadas

O acúmulo de lipídeos pelas cepas não-adaptadas e adaptadas cultivadas em hidrolisado hemicelulósico suplementado por 96 horas foi avaliado; os

principais resultados estão reunidos na **Tabela 7 e 8** e demonstrados na **Figura 18**.

Dentre as cepas adaptadas, a que demonstrou maior acúmulo foi a *R. toruloides* 2896 (9,3% m.m⁻¹), seguido por *R. toruloides* 2882 (8,8% m.m⁻¹), e *R. toruloides* 2781 (7,8% m.m⁻¹). Apenas *R. toruloides* 2781 exibiu uma diferença significativa entre as linhagens adaptadas. Por outro lado, o teste de Tukey para as linhagens não adaptadas não indicou nenhuma diferença significativa. O acúmulo de lipídios observado em hidrolisado, foi superior ao atingido em todos os meios semi-definidos, inclusive no meio MGX e MGXAc que apresentam concentrações similares de açúcares e ácido acético ao do hidrolisado utilizado. O aumento relativo do acúmulo de lipídios observado quando cultivado em hidrolisado com as cepas não-adaptadas e ao cultivado em hidrolisado pelas cepas adaptadas foi de 1,2; 1,90 e 2,05 vezes para *R. toruloides* 2781, *R. toruloides* 2882, e *R. toruloides* 2896; respectivamente.

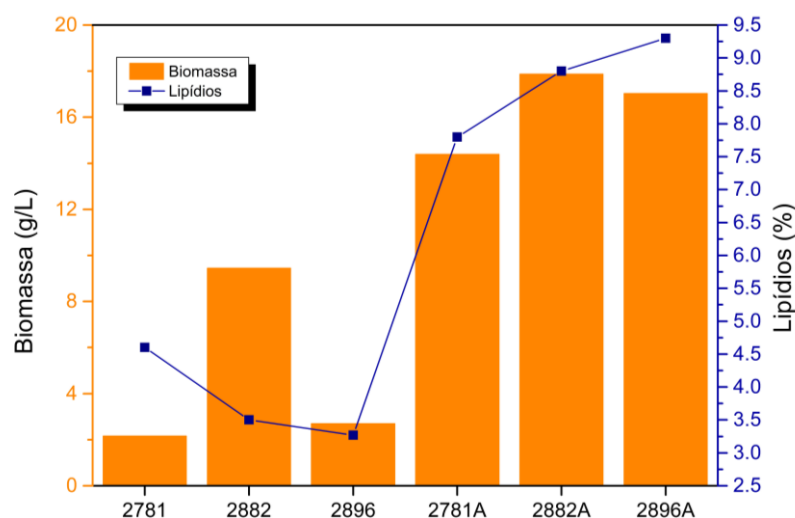


Figura 19 - Acúmulo de lipídio pelas cepas adaptadas e não-adaptadas de *Rhodosporidium toruloides* em hidrolisado hemicelulósico não-destoxificado

Fonte: Elaborada pela Autora (2024).

Diversos autores destacam que a razão C:N entre 70 e 200 é um dos parâmetros essenciais para alcançar altos rendimentos na produção de lipídios por leveduras oleaginosas,[129,190,121]. Esse fator desempenha um papel crítico na regulação metabólica dessas leveduras, influenciando diretamente a síntese lipídica. Em ambientes com alto teor de nitrogênio, as células priorizam

o crescimento e a biossíntese de proteínas, resultando em menor acúmulo de lipídios. Por outro lado, quando a razão C:N é elevada, geralmente entre 70 e 200, a limitação de nitrogênio reduz a síntese proteica e a divisão celular, direcionando o excesso de carbono para a biossíntese de lipídios. Esse processo leva ao acúmulo de triacilgliceróis (TAGs), que atuam como reserva energética para a célula [145].

Lopes, Bonturi e Miranda (2020) [126] realizaram ensaios com a cepa *R. toruloides* CCT 7815 utilizando hidrolisado hemicelulósico de eucalipto como fonte de carbono (xilose 12,19 g.L⁻¹, glicose 0,42 g.L⁻¹, ácido acético 2,41 g.L⁻¹, furfural 0,58 g.L⁻¹). Nos experimentos com uma razão C:N de 100, os autores relataram um teor lipídico de 26,42%, uma biomassa de 6,52 g.L⁻¹ e uma produtividade de 14 mg.L.h⁻¹. Diante da baixa concentração de xilose disponível, o hidrolisado foi concentrado, atingindo 37,39 g.L⁻¹ de açúcares totais. No entanto, nos primeiros cultivos com hidrolisado concentrado (pH inicial de 5,0), não houve crescimento celular, mesmo quando o meio foi diluído em água. Já o cultivo realizado com pH ajustado para 6,2 obteve sucesso, resultando em uma biomassa de 6,0 g.L⁻¹ e um teor de lipídios de 50%. Os autores atribuíram essa inibição ao ácido acético, que, em pH 5,0, permanece predominantemente na forma não dissociada, podendo difundir-se através da membrana celular e comprometer o metabolismo da levedura.

Os resultados deste estudo são corroborados pelos achados de Liu *et al.* (2020) [139], que investigaram a fermentação da cepa *R. toruloides* NRRL Y-1091 em hidrolisado hemicelulósico de palha de trigo. O meio utilizado continha uma concentração de xilose (24,76 g.L⁻¹) e compostos fenólicos (0,63 g.L⁻¹) similares às do presente trabalho, além de glicose (4,72 g.L⁻¹), ácido acético (3,67 g.L⁻¹) e furfural (0,07 g.L⁻¹). Após 120 horas de cultivo, o acúmulo de lipídios atingiu 9,44%, com uma produtividade de 8,43 mg.L.h⁻¹, valores inferiores aos obtidos neste estudo para todas as cepas adaptadas e cultivadas em hidrolisado. Além disso, diferentemente do HHC utilizado neste trabalho, que foi empregado “*in natura*”, o hidrolisado hemicelulósico nos ensaios de Liu *et al.* (2020) passou por etapas de concentração e destoxificação.

Comparando o acúmulo de lipídios atingido pelas cepas não-adaptadas em HHC (**Figura 18**), este foi inferior em todas as condições quando comparado aos meios semi-definidos utilizados (**Tabela 7**), o que é também esperado devido

ao HHC ser um meio complexo, com a presença de diversos compostos inibitórios ao metabolismo celular. Os resultados obtidos evidenciam o efeito positivo da adaptação empregada. Os rendimentos obtidos para as leveduras adaptadas foram superiores aos relatados por Matsakas *et al.* (2017) [209] em um processo fermentativo com *R. toruloides* NCYC 1576 cultivada em hidrolisado hemicelulósico destoxificado de aparas de madeira (contendo 63,3 g.L⁻¹ de xilose, 16,8 g.L⁻¹ de ácido acético, 0,04 g.L⁻¹ de furfural e 0,05 g.L⁻¹ de fenol) com uma razão C/N de 20. Nesse estudo, os autores relataram um rendimento de conversão de substrato em biomassa ($Y_{x/s}$) de 0,21 g.g⁻¹ e um rendimento de conversão de substrato em lipídios ($Y_{p/s}$) de 0,049 g.g⁻¹. No presente trabalho, os valores de $Y_{p/s}$ obtidos para as leveduras adaptadas foram superiores, atingindo 0,059 g.g⁻¹ para *R. toruloides* 2882 e 0,067 g.g⁻¹ para *R. toruloides* 2896.

SEGUNDO CENÁRIO: Desenvolvimento de biocompósitos à base de celulose-lignina

5.4 Caracterização da matéria-prima e obtenção da polpa rica em celulose após tratamento alcalino

A **Tabela 9** mostra os resultados obtidos do teor de lignina para a biomassa “in natura” e da fração sólida (polpa celulósica) obtida após tratamento com NaOH. A partir desses resultados é possível determinar a remoção de lignina na etapa de tratamento químico.

O tratamento alcalino resultou em uma deslignificação parcial da biomassa de cana-de-açúcar, o que consequentemente aumentou o conteúdo de celulose na polpa recuperada. Considerando a biomassa “in natura”, o tratamento com NaOH reduziu o teor de lignina de 25,35% para 14,31%, resultando em uma remoção de 43,94%. Esse resultado é satisfatório diante das condições empregadas (3% NaOH, razão sólido-líquido de 1:5, 170°C, 60 minutos), proporcionando uma polpa celulósica com melhor processabilidade para a produção de biocompósitos. Além de reduzir a recalcitrância associada à lignina, o pré-tratamento alcalino modifica a estrutura da celulose, promovendo o intumescimento das fibras e, consequentemente, facilitando o processamento

do biocompósito. Por exemplo, Shakeel *et al.* (2024) [210] utilizaram um pré-tratamento alcalino com NaOH (3%, 121°C, 60 minutos), resultando em uma remoção de lignina de apenas 16,71%. A menor eficiência pode ser atribuída à temperatura mais baixa empregada (121°C), que, para alcançar uma deslignificação mais significativa, exigiria um tempo de residência superior a 60 minutos e/ou uma maior concentração de álcali.

Tabela 8 - Composição química da biomassa de cana-de-açúcar e polpa celulósica em estudo e referências

Componentes	Presente trabalho		A	B
Composição química (%m/m)	Biomassa de cana-de-açúcar	Polpa celulósica		
Lignina Total	25,53 ± 0,80	14,31±0,80	21,35	11,07±0,74
Cinzas	4,09±0,15	3,79±0,22	0,64	-

^ARaina *et al.* (2024) [80], ^B dos Santos *et al.* (2023) [211].

Fonte: Elaborada pela Autora (2024).

A eficiência de deslignificação depende diretamente das condições operacionais do tratamento aplicado. No caso do estudo de Raina *et al.* (2024) [80], que utilizou tratamento alcalino com 1% de NaOH a 121°C por 60 minutos na biomassa de cana-de-açúcar, a polpa recuperada apresentou um teor de lignina de 21,35%. Por outro lado, Santos *et al.* (2023) [211] obtiveram uma polpa celulósica com 11,07% de lignina ao empregar tratamento alcalino menos severo (1% de NaOH, 110°C por 20 minutos), resultado semelhante ao observado neste estudo.

A **Figura 19** apresenta imagens de MEV do bagaço de cana-de-açúcar antes (**Fig. 19a, b**) e após o tratamento com NaOH (**Fig. 19c, d**). No bagaço não tratado, as fibras exibem uma organização compacta e sobreposta, características atribuídas à camada protetora de lignina e hemicelulose, conforme descrito por Assumpção *et al.* (2016) [212]. Após o tratamento alcalino, observa-se uma desestruturação da parede celular, evidenciada por uma morfologia irregular e desorganizada, com a presença de rachaduras superficiais. Além disso, a formação de tubos e poros na parede celular indica a ruptura tanto externa quanto interna da estrutura lignocelulósica. A ação do

NaOH também resultou em uma superfície mais rugosa e menos compactada, com microespaços gerados pelos processos de deslignificação, um padrão já reportado por Reis *et al.* (2016).

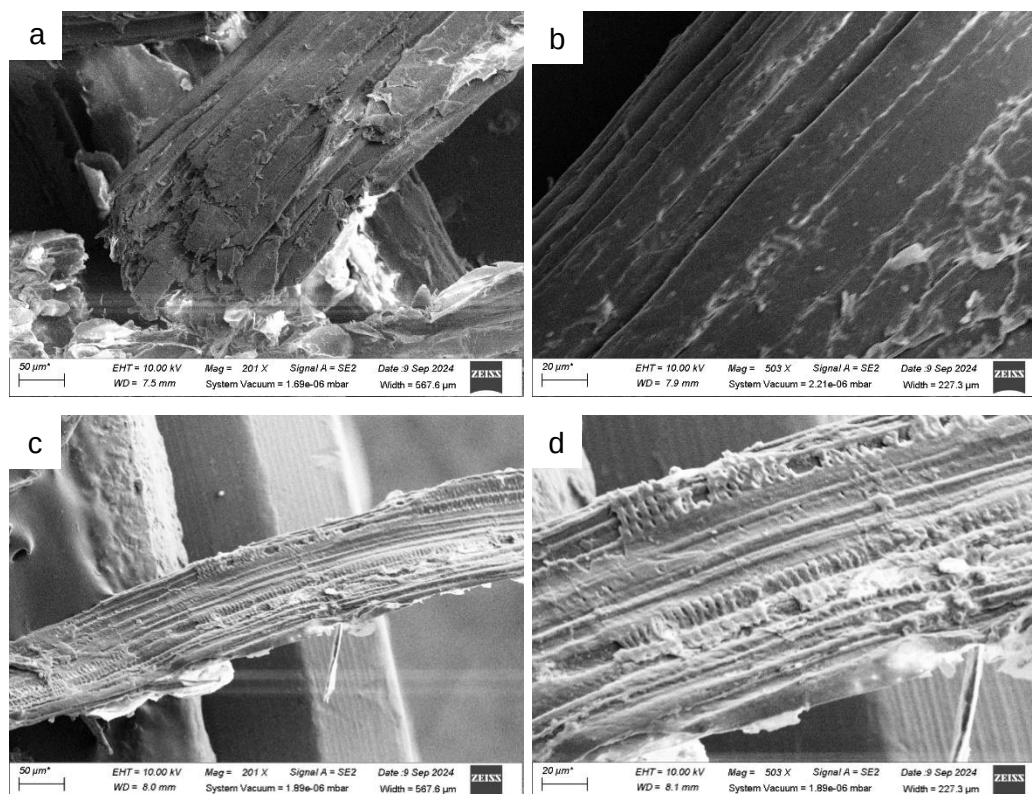


Figura 19 - Imagens de MEV para biomassa de cana-de-açúcar não tratado (a, b), e após tratamento químico alcalino (c,d)

Fonte: Elaborada pela Autora (2025).

5.5 Caracterização da lignina recuperada

5.5.1 Composição química

A composição química da lignina precipitada e seu rendimento após etapa de acidificação do licor negro (pH= 3) estão apresentados na **Tabela 10**.

O rendimento obtido, considerando o volume de licor negro recuperado, foi de 29,66 g·L⁻¹. Este resultado está diretamente relacionado ao pH atingido durante a etapa de precipitação, que, neste estudo, foi ajustado para 2, favorecendo uma maior precipitação de material. A fração de lignina solúvel (2,14%) é composta predominantemente por produtos de degradação de baixo

peso molecular e derivados hidrofílicos [213]. Por outro lado, a lignina insolúvel (78,26%) representa a fração mais resistente à degradação, devido ao seu caráter altamente condensado e à presença de ligações cruzadas, características da fração polimérica da lignina. O teor de lignina insolúvel obtido neste estudo foi superior ao relatado por Domínguez-Robles *et al.* (2018) [180], que realizaram um tratamento alcalino com 7% de NaOH em palha de trigo, utilizando uma razão líquido/sólido de 10:1, a 100 °C por 150 minutos, e observaram um teor de lignina insolúvel de 64,90%. Em contrapartida, o teor de lignina solúvel registrado por esses autores (3,91%) foi superior ao encontrado neste trabalho. Esse comportamento pode ser atribuído à maior severidade do tratamento aplicado por Domínguez-Robles e colaboradores. O uso de uma concentração mais elevada de NaOH (7%) promoveu uma degradação mais extensa da lignina, aumentando a fração solúvel. Por outro lado, concentrações mais baixas, como a empregada neste estudo (3%), são menos eficientes na quebra das ligações da lignina, resultando em uma maior fração insolúvel.

Tabela 9 - Composição química da lignina alcalina recuperada da biomassa de cana-de-açúcar.

Amostra	Rendimento (g.L⁻¹)	Pureza (%)	Lignina insolúvel (%)	Lignina solúvel (%)	Cinzas (%)
Lignina alcalina	29,66	78,14	78,26	2,14	1,88

Fonte: Elaborada pela Autora (2025).

Como pode ser observado, o teor de cinzas da lignina foi relativamente baixo (1,88%) comparado com outros trabalhos relatados na literatura, indicando que as etapas de lavagem realizadas para a remoção de contaminantes indesejáveis foram eficazes. Em contraste, o estudo de Domínguez-Robles *et al.* (2016) [214] registrou teores de cinzas entre 27,07% e 47,07%. Os autores atribuíram esses altos valores à ineficiência das etapas de lavagem e aos elevados níveis de sílica e cinzas presentes na biomassa “in natura”, especificamente na palha de trigo.

5.5.2 Comportamento térmico da lignina

As análises termogravimétricas são um parâmetro fundamental para investigar o comportamento de degradação térmica da lignina, sendo essenciais para avaliar sua aplicabilidade em diferentes áreas. A **Figura 20** apresenta os gráficos TG e DTG, que detalham esse comportamento, permitindo a identificação das principais etapas de decomposição térmica e fornecendo informações sobre a estabilidade térmica e a cinética de degradação da lignina.

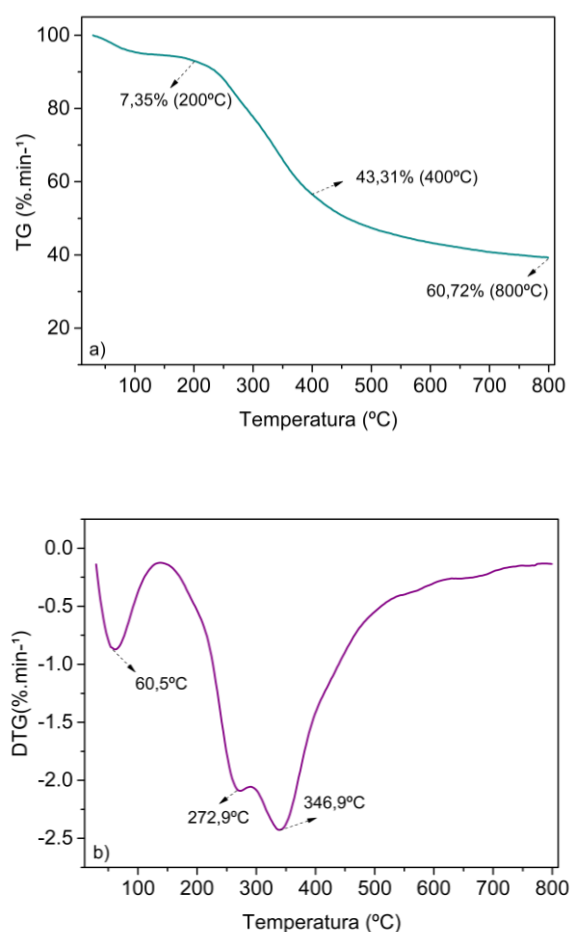


Figura 20 - Perfis térmicos da lignina alcalina obtida a partir do bagaço de cana-de-açúcar: (a) análise termogravimétrica (TG) e (b) taxa de perda de massa derivada (DTG).

Fonte: elaborada pela Autora (2025).

Conforme observado na **Figura 20a**, o processo de decomposição térmica da lignina alcalina recuperada ocorre em três estágio diferentes. A perda de massa de 7,35% observada a 200°C está relacionada a evaporação de água

e degradação de impurezas componentes de carboidratos menos estáveis termicamente (hemicelulose). O segundo estágio observado entre 250 – 400°C corresponde a degradação propriamente dita da lignina através da fragmentação de ligações éter (β -O-4 e 4-O-5) e ligações C–C (β -5 e β - β) entre as unidades fenilpropanóides na lignina [90]. As perdas de massas máximas são observadas nessa região, nas temperaturas de 272,9 e 346,9°C (**Figura 20b**). Por fim, no terceiro estágio entre 400 – 500°C corresponde a etapa de degradação final e corresponde a degradação de anéis aromáticos e à liberação de grupos OCH_3 , que irá levar a formação de estruturas aromáticas altamente reticulada com a formação de carvão como produto final [9]. A fração residual de lignina obtida após degradação térmica até 800°C foi de 39,28%, comparável aos relatados por [215] que registraram 30,64 e 47,79% para ligninas alcalinas de bagaço e palha de choupo.

A partir das curvas obtidas, nota-se que a zona de decomposição alcalina acontece em uma ampla faixa de temperatura (100 – 500°C), isso acontece principalmente porque a lignina é uma grande estrutura aromática formada com ramificações, onde as ligações e grupos funcionais dessa estrutura possui uma ampla faixa de ruptura térmica [215]. O comportamento térmico da lignina recuperada neste estudo é similar aos relatados na literatura [84,195]. Para a lignina analisada, a temperatura máxima de degradação é de 346,9°C, o que demonstra uma excelente estabilidade térmica superior ao alcançado por Mennani e colaboradores (2022) [90] que relataram temperatura máxima de degradação para lignina alcalina de bagaço de cana-de-açúcar de 270°C. Estes autores analisaram também resíduos de sementes de cacto (250°C), borra de café (258°C) e polpa de beterraba (235°C). Isso pode ser explicado, provavelmente, pela presença de numerosas ligações β -O-4 na estrutura da lignina, o que confere maior resistência à degradação térmica.

5.5.3 Características da lignina reveladas por análise de RMN

A **Figura 21** mostra espectros de RMN 2D-HSQC para a cadeia lateral, ou seja, $\delta\text{C}/\delta\text{H}$ 45,00-95,00/2,50-5,00 ppm, e para a região aromática, ou seja, $\delta\text{C}/\delta\text{H}$ 100,00-150,00/5,50-8,00 ppm, da lignina obtida do hidrolisado do

tratamento químico, com seus sinais mostrados na **Tabela 11** e quantificação das ligações com base na análise de RMN.

Conforme mostrado na **Figura 21**, foram encontrados sinais em $\delta C/\delta H$ na região de oxidação alifática ($\delta C/\delta H$ 50–90/2,5–5 ppm), representados em laranja no espectro, que podem ser atribuídos aos carbonos ($C_{2,3,4,5}$) da xilana na estrutura carboidrato-lignina [190]. Esses resultados indicam que a amostra de lignina possui estruturas do complexo lignina-carboidrato. Como esperado, a amostra de lignina apresentou sinal em $\delta C/\delta H$ 55,12/3,81, o que sugeriu a presença de grupos metoxi [192]. Os grupos metoxi ($-OCH_3$) geralmente estão ligados aos anéis aromáticos da estrutura da lignina, após a polimerização dos monolignóis principais (como p-cumaroil, coniferoil e sinapiloálcool) que constituem a lignina. Os sinais das ligações interunitárias β -O-4, β -5 e β - β foram dominantes.

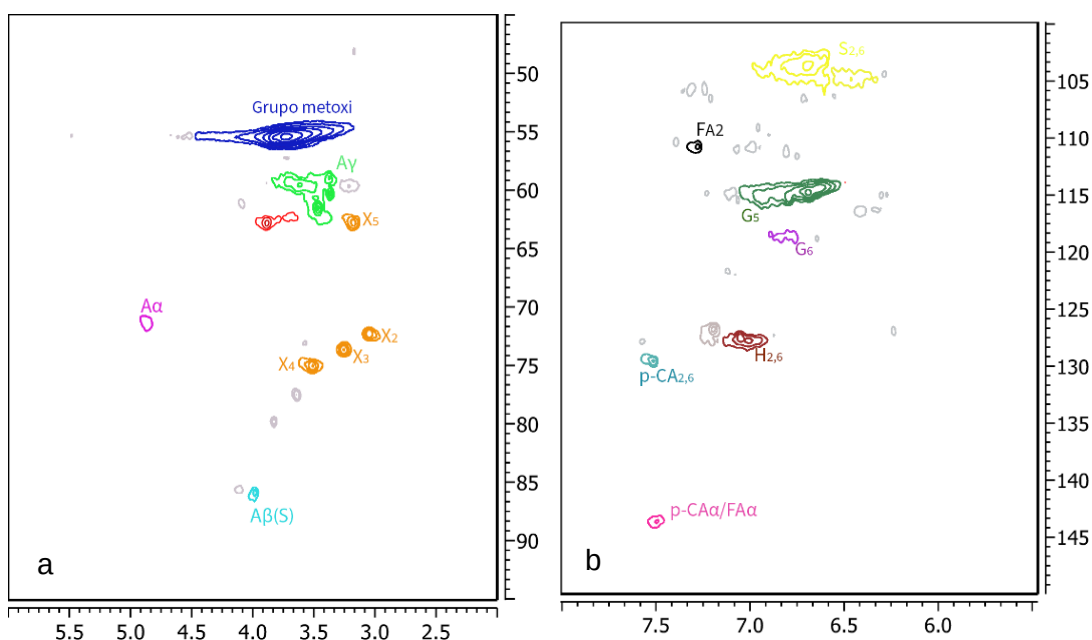


Figura 21 - Análises quantitativas de RMN HSQC 2D para lignina recuperada após tratamento químico (NaOH) do bagaço de cana-de-açúcar. Regiões alifáticas $\delta C/\delta H$ 50-110/3,0-5,5 ppm (a), e aromáticas $\delta C/\delta H$ 90-140/6,0-8,0 ppm (b).

Fonte: Elaborada pela autora (2025).

Na região aromática, foram observados sinais correspondentes às cadeias laterais insaturadas de ácidos hidroxicinâmicos e aos anéis aromáticos das unidades siringil (S) e guaiacil (G) em $\delta C/\delta H$ 105/6,81, 120/6,8 e 130/7,51, respectivamente. Destaca-se a intensidade do pico em $\delta C/\delta H$ 105/6,81,

atribuído às unidades siringil, o que indica uma predominância dessas unidades na lignina recuperada, associada à abundância de derivados sinapílicos. Além disso, o sinal em $\delta C/\delta H$ 115/6,81, característico das unidades guaiacil, sugere uma contribuição significativa dessas estruturas derivadas do álcool coniferílico. Esse perfil é esperado para ligninas de espécies de gramíneas, como a cana-de-açúcar, onde as unidades predominantes são siringil e guaiacil [193].

Tabela 10 - Picos atribuídos para RMN HSQC 2D

$\delta C/\delta H$ (ppm)	Correspondente
55,12/ 3,81	C-H em grupos metoxila
60,12/3,72	C _Y -H _Y na subestrutura β -O-4' (A _Y)
63,45/3,20	C ₅ -H ₅ em β -D- xilopiranosídeo (X ₅)
63,48/3,92	C _Y -H _Y m subestruturas de fenilcumarano (C _Y)
72,98/3,10	C ₂ -H ₂ em β -D- xilopiranosídeo (X ₂)
75,16/3,33	C ₃ -H ₃ em β -D- xilopiranosídeo (X ₃)
74,98/3,62	C ₄ -H ₄ em β -D- xilopiranosídeo (X ₄)
71,45/4,87	C _{α} -H _{α} em A (A _{α})
85,21/4,03	C _{β} -H _{β} na subestrutura β -O-4' ligada a uma unidade S (A _{β} (S))
105/6,81	C _{2,6} -H _{2,6} em unidades siringil (S _{2,6})
110/7,37	C ₂ -H ₂ em ferulatos (FA ₂)
115/6,81	C ₅ -H ₅ em unidades de guaiacila (G ₅)
120/6,8	C ₆ -H ₆ em unidades de guaiacila (G ₆)
128/7,13	C _{2,6} -H _{2,6} em unidades p-hidroxifenil (H _{2,6})
130/7,51	C _{α} -H _{α} em ácido p-cumárico livre (p-CA) e ácido ferúlico (FA) (p-CA _{α} /FA _{α})

Fonte: Elaborada pela Autora (2025).

Um pico de menor intensidade, correspondente à ligação C₂-H₂ no anel aromático de ácidos ferúlicos ($\delta C/\delta H$ 110/7,37), sugere a presença de ligações entre lignina e carboidratos na estrutura lignocelulósica. Isso indica que os complexos lignina-carboidrato estão presentes em quantidade reduzida na amostra. O sinal observado em $\delta C/\delta H$ 128/7,13, relacionado às unidades p-hidroxifenil (H), reflete uma lignina de menor complexidade estrutural, devido à ausência de grupos metoxi no anel aromático e ao menor grau de substituição. Por fim, também foi identificado um pico característico de ácidos fenólicos em $\delta C/\delta H$ 130/7,51, reforçando a presença de compostos derivados de ácidos

hidroxicinâmicos. Esses resultados indicam uma composição típica de lignina de gramíneas, com predominância de unidades S e G e uma menor quantidade de unidades H além de complexos lignina-carboidrato.

De acordo com a **Tabela 12**, o valor de 1,42 sugere que, para cada 100 unidades C₉ (os blocos básicos de construção da lignina), há 1,42 unidades aromáticas presentes. O valor de 1,42 é relativamente baixo em comparação com outras amostras de lignina e indica um menor conteúdo aromático. As unidades siringil (S) são o tipo dominante nesta amostra de lignina, respondendo por 60,56% do conteúdo aromático total. Unidades siringil tipicamente indicam uma estrutura de lignina mais complexa e flexível. Unidades de guaiacil (G) estão presentes em quantidades moderadas, compondo 32,39% do conteúdo aromático. Isso é confirmado pela relação S/G de 1,87%. As unidades de hidroxifenil (H) são relativamente baixas, contribuindo com 7,66%. Um baixo teor de unidade H normalmente se correlaciona com lignina de folhosas ou gramíneas, onde unidades de siringil e guaiacil são mais abundantes do que unidades de H.

A ligação β -O-4 é a ligação mais comum e importante na lignina. Um valor de 17,83% sugere uma proporção significativa dessas ligações, que são tipicamente mais fáceis de quebrar e modificar, tornando a lignina mais reativa em processos químicos. O bagaço de cana-de-açúcar contém pelo menos 50 ligações β -O-4 por 100 unidades C₉ [193]. Comparado a outros estudos, a fração de ligações β -O-4 mantidas é consistente com a etapa de tratamento químico empregada em que a taxa de deslignificação foi de 43,94% além de um alto grau de pureza (78,14%).

A presença de ligações β -O-4 também é favorável para certas aplicações, como despolimerização para biocombustíveis. As ligações β -5 são menos abundantes, com apenas 1,18%. Essas ligações são tipicamente mais rígidas e mais difíceis de quebrar do que as ligações β -O-4. Sua baixa presença indica que essa lignina pode ser mais facilmente despolimerizada em comparação com ligninas com uma proporção maior de ligações β -5. As ligações β - β também são relativamente baixas, em 2,71%. Essas ligações são mais difíceis de quebrar e contribuem para a estabilidade estrutural da lignina. Sua presença, embora baixa, ainda sugere alguma resistência à degradação, aumentando a integridade estrutural geral da lignina.

Tabela 11 - Semi-quantificação das subunidades de lignina alcalina e ligações interunitárias

Tipo de ligações	Lignina alcalina
Aromáticos totais (100 unidades C9)	1,42
S	60,56
G	32,39
H	7,66
Razão S/G	1,87
Ligações β -O-4	17,83
Ligações β -5	1,18
Ligações β - β	2,71

Fonte: Elaborada pela autora (2025).

5.5.4 Grupos hidroxila determinados por RMN de ^{31}P

A **Figura 22** exibe o espectro de RMN ^{31}P após derivatização da amostra de lignina com reagente contendo fósforo, a quantidade de grupos hidroxilas correspondentes estão listadas na **Tabela 13**. Esta amostra de lignina apresentou uma maior quantidade de OH alifático (2,80 mmol.g⁻¹).

Tabela 12 - Quantificação total do grupo hidroxila de amostras de lignina

Tipo de OH	Lignina alcalina
OH alifático (145,4-150,0)	2,80
Fenólico siringila (-OH) (143,2-141,9)	0,60
Fenólico guaiacila (-OH) (140,2-139,2)	0,13
Fenólico catecol (-OH) (138,2-139,2)	0,55
Fenólico p-hidroxifenílico (-OH) (137,6-136,8)	0,62
Ácido carboxílico (-OH) (134,5-133,7)	0,62
Total de OH (mmol/g)	5,31

Fonte: Elaborada pela Autora (2025).

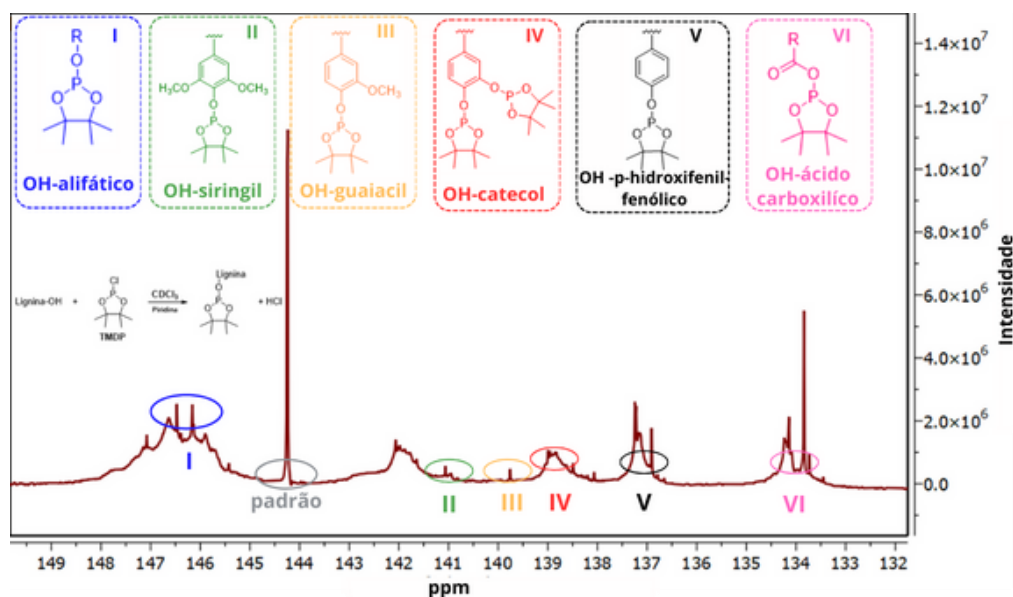


Figura 22 - Espectros de RMN ^{31}P da amostra de lignina alcalina do bagaço de cana-de-açúcar

Fonte: Elaborada pela Autora (2025).

Os grupos hidroxilas são relatados estarem envolvidos na melhoria das propriedades físicas e mecânicas dos biocompósitos obtidos [180]. Isso se dá pela interação dos grupos hidroxilas com as hidroxilas presente fração celulósica obtida após tratamento químico, formando ligações de hidrogênio que irá resultar em uma rede densa, aumentando a força de ligação entre esses componentes, além de hidrofobicidade e durabilidade dos biocompósitos obtidos [177].

5.6 Avaliação do efeito da pressão e temperatura nos biocompósitos produzidos

Para a definição dos parâmetros operacionais a serem utilizados nos ensaios subsequentes, a primeira batelada de biocompósitos foi produzida a 180°C sob diferentes pressões: 8, 24 e 40 MPa. A escolha da temperatura de trabalho inicial baseou-se em reportados na literatura [196,217,148].

Os resultados de resistência à flexão (**Figura 23a**) indicaram que o biocompósito produzido a 40 MPa apresentou a maior resistência mecânica (30,21 MPa). Esse comportamento é atribuído à maior compactação da matriz, promovida pelo aumento da pressão aplicada, favorecendo a coesão entre as

partículas e a integridade estrutural do material. O teste de Tukey mostrou que não há diferenças estatisticamente significativas entre as amostras ($p < 0,05$).

A segunda etapa da triagem das condições consistiu em testar duas temperaturas adicionais: 160°C e 200°C (**Figura 23b**). O teste de Tukey para as temperaturas testadas indicou diferença significativa entre as amostras ($p < 0,05$). Nesse contexto, a temperatura intermediária de 180°C resultou no biocompósito com melhor desempenho. Esse resultado se deve à necessidade de uma temperatura ideal que permita a transição de estado da lignina presente na matriz do biocompósito, promovendo sua incorporação às fibras de celulose, sem causar degradação térmica dos componentes. Temperaturas acima desse limiar podem levar à deterioração dos constituintes do biocompósito [172]. Esse parâmetro varia de acordo com a composição do biocompósito e as características da matéria-prima utilizada. Por exemplo, Cheng *et al.* (2024) [170] avaliaram o efeito da temperatura de prensagem (150, 170 e 190°C) e o conteúdo de umidade (8 e 20%) em painel de partícula. A temperatura ideal de prensagem observada foi de 170°C e 20% de umidade. Esse desempenho superior pode ser atribuído às alterações químicas nas partículas de madeira e à transferência de calor favorecida pela alta temperatura e alto teor de umidade, tornando-os mais maleáveis durante a prensagem a quente.

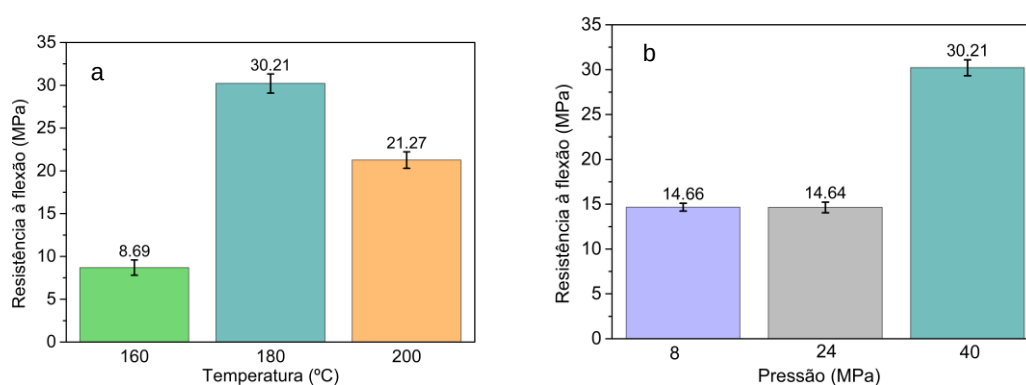


Figura 23 - Desempenho quanto a resistência à flexão dos biocompósitos gerados a diferentes temperaturas (160, 180, 200°C) (a), diferentes pressões operacionais (8, 24 e 40 MPa) (b).

Fonte: Elaborada pela Autora (2025).

5.7 Avaliação do efeito da adição de lignina nos biocompósitos

5.7.1 Densidade e Composição química dos biocompósitos

Os resultados referentes à densidade, ao teor de incorporação real da lignina e ao teor de cinzas estão apresentados nas **Figuras 24a e b**. As densidades dos biocompósitos variaram de 0,47 a 0,76 g.cm⁻³. A Figura 24a demonstra que a densidade dos biocompósitos aumentou progressivamente com a adição de lignina, atingindo seu valor máximo com 15% de lignina. Os biocompósitos contendo 15% e 20% de lignina apresentaram densidades similares, indicando que a adição de lignina acima de 15% não promoveu um aumento significativo na densidade do material. Esse comportamento sugere que as fibras podem ter atingido sua capacidade máxima de incorporação, seguida pela saturação. As densidades obtidas estão dentro das especificações da norma JIS A 5908 para painéis de base e decorativos, que exige densidades entre 0,40–0,90 g.cm⁻³ [194]. Todas as comparações foram consideradas significativas, pois seus valores de q superam o valor crítico de Tukey. Isso indica que há diferenças estatisticamente significativas entre todos os pares de grupos. Além disso, com base na normativa brasileira estabelecida pela NBR 15316-2, os biocompósitos com adição de lignina classificam-se como painéis de fibras de média densidade, cuja faixa aceitável é de 0,55 a 0,75 g.cm⁻³.

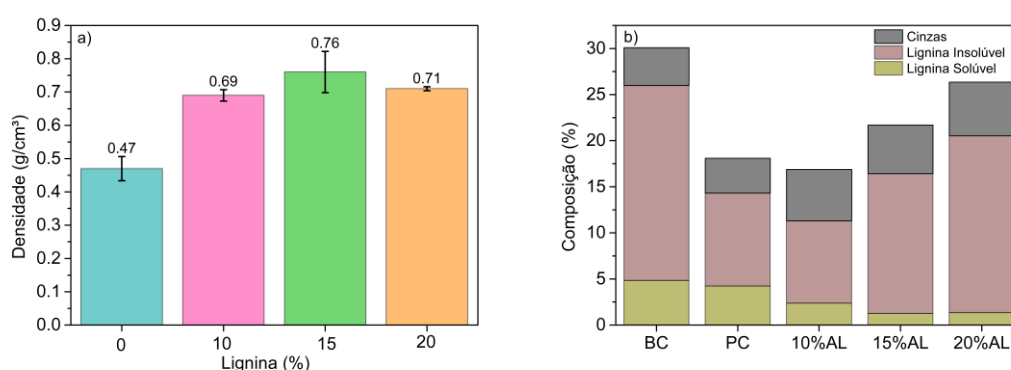


Figura 24 - Densidade dos biocompósitos(a), Composição química da biomassa de cana-de-açúcar “in natura” (BC), polpa celulósica obtida após tratamento com NaOH (PC) e biocompósitos com incorporação de diferentes quantidades de lignina alcalina: 10, 15 e 20% (b).

Fonte: Elaborada pela Autora (2025).

Os resultados desse estudo estão de acordo com os obtidos por Astari *et al.* (2024) [194]. Os autores produziram biocompósitos a partir de talos de milho doce, utilizando ácido cítrico como adesivo. As partículas de talo de milho foram misturadas com 0, 15, 20 e 25% de ácido cítrico e submetidas à prensagem a quente a 200 °C por 10 minutos, sob uma pressão de 10 MPa, resultando em uma densidade média de 0,71 g.cm⁻³. Esse valor é considerado satisfatório para materiais provenientes de subprodutos agrícolas, dado que a densidade natural desses materiais é geralmente inferior à de subprodutos florestais. Por exemplo, Yang *et al.* (2023) [161] utilizaram resíduos florestais de *Buxus sinica*, cuja densidade natural é de 0,92 g.cm⁻³. O pó de madeira foi misturado uniformemente com uma solução de peróxido de hidrogênio, hidróxido de sódio e silicato de sódio na proporção de 1%: 0,5%: 0,2%. A mistura foi agitada a 150 °C por 4 horas e, em seguida, recuperado o pó pré-tratado. Esse material, com teores de umidade de 6% e 8%, foi colocado em moldes e prensado a 170 °C e 75 MPa por 60 minutos. Como resultado, foram obtidos biocompósitos com densidades de 1,55 g.cm⁻³ e 1,64 g.cm⁻³, respectivamente. A densidade do material é um parâmetro crítico que influencia diretamente o desempenho das propriedades mecânicas e a aplicação final do biocompósito. Nesse contexto, observa-se que a adição de lignina, aliada às condições de alta temperatura (150 – 200°C) e pressão operacional (20 – 70 MPa) durante a prensagem, contribui significativamente para o aumento da densidade [217]. Esses resultados sugerem que o tratamento alcalino das fibras, combinado com a incorporação de lignina, favorece a formação de ligações mais robustas entre as fibras, aprimorando as características estruturais do biocompósito.

Os teores de lignina incorporada e de cinzas nos biocompósitos estão apresentados na **Figura 24b**. A biomassa “in natura” continha 25,53% de lignina total e 4,09% de cinzas. Após a etapa de deslignificação, esses valores foram reduzidos para 14,31% e 3,79%, respectivamente. Essa redução era esperada e pode ser atribuída ao tratamento químico, que promove a remoção parcial da lignina, além das etapas subsequentes de lavagem, responsáveis por eliminar reagentes químicos e impurezas.

Nos biocompósitos gerados, a incorporação de lignina atingiu os objetivos do estudo, apresentando teores reais de 11,29%, 16,42% e 20,54%, dentro da faixa proposta. A **Figura 25** mostra os biocompósitos produzidos. Além da etapa

de incorporação, essa variação pode estar relacionada à remoção dos componentes extrativos e à degradação de componentes durante o tratamento químico e a prensagem a quente. O tratamento alcalino empregado também resulta na degradação parcial da lignina e dos carboidrato, promovendo a remoção de hemicelulose e celulose, e consequentemente, aumentando o teor relativo de lignina disponível no material [177].

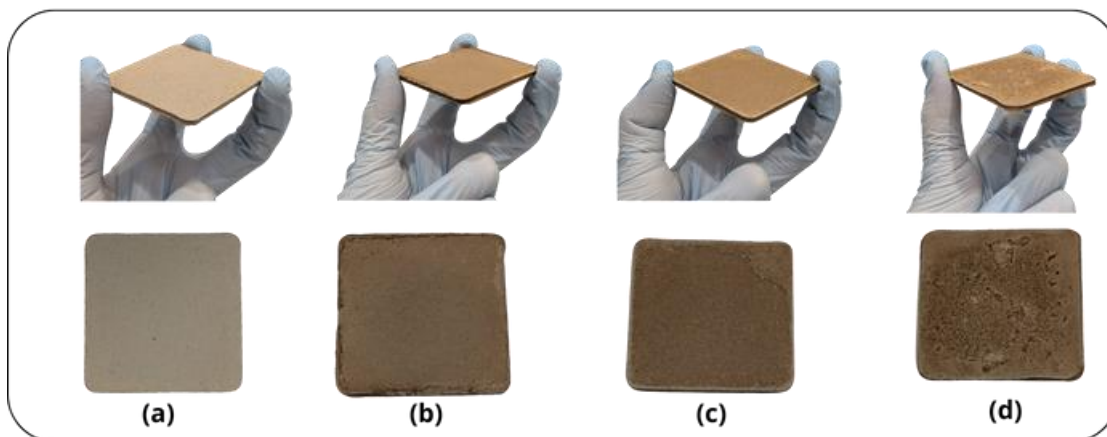


Figura 25 - Fotos dos biocompósitos produzidos com diferentes quantidades de lignina incorporada de (a) 0%, (b) 10%, (c) 15% e (d) 20%.

Fonte: Elaborada pela Autora (2025).

5.7.2 Inchamento em espessura e a absorção de água dos biocompósitos

Os resultados dos testes de inchamento em espessura e absorção de água estão representados nas **Figuras 26a-d**. Deve-se notar que durante a fabricação dos biocompósitos, não houve nenhum revestimento hidrofóbico ou adição de agente químico para melhorar as características de resistência à água. Nos ensaios de imersão de até 30 minutos, observou-se que o inchamento em espessura não apresentou variação significativa ao comparar o biocompósito sem adição de lignina com os biocompósitos que receberam diferentes quantidades de lignina. Os valores obtidos ficaram na faixa de 50,73% a 59,22%.

Por outro lado, os resultados de absorção de água mostraram diferenças mais expressivas entre o biocompósito controle e aqueles contendo lignina. A amostra sem lignina (AL0) apresentou uma absorção de água de 199,75%, enquanto as amostras com lignina apresentaram valores reduzidos: 100,12%,

99%, e 57% para AL10, AL15 e AL20, respectivamente. Esses resultados evidenciam que a lignina, um agente hidrofóbico natural, desempenhou um papel importante na proteção das fibras de celulose, contribuindo para a redução da absorção de água nos biocompósitos.

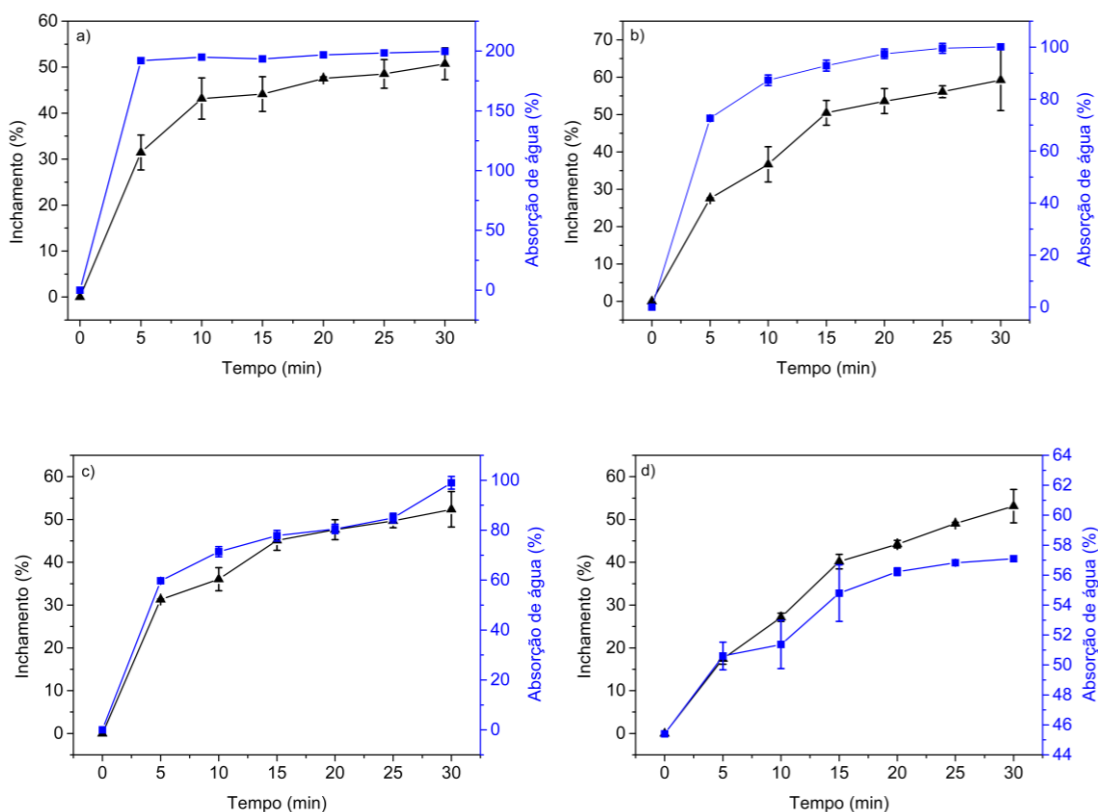


Figura 26 - Curvas de inchamento em espessura e de absorção de água dos biocompósitos avaliados por imersão em água durante 30 minutos. (a) AL0 – sem adição de lignina, (b) AL10 – 10% de lignina, (c) AL15 – 15% de lignina, (d) AL20 – 20% de lignina.

Fonte: Elaborada pela Autora (2025).

A absorção de água dos biocompósitos foi gradualmente reduzida com o aumento da incorporação de lignina, provavelmente devido à formação de uma camada mais hidrofóbica na superfície do material. Esse efeito deve ter sido intensificado pela etapa de prensagem a quente, que resultou em uma estrutura interna mais compacta das fibras, reduzindo assim a absorção de água [169].

As **Figuras 27a-b** apresentam os resultados de inchamento em espessura e absorção de água para os biocompósitos imersos por 1, 2 e 3 horas. Novamente, foram observadas diferenças mais significativas nos ensaios de

absorção. Para a amostra sem lignina (0%AL), a absorção atingiu um platô de 200%, enquanto as amostras com adição de lignina mantiveram a absorção ao redor de 100%.

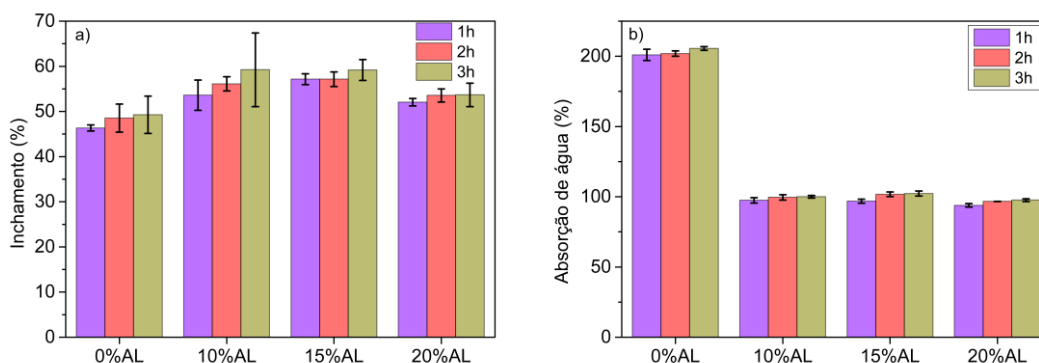


Figura 27 - Inchamento em espessura (a) e absorção de água dos biocompósitos avaliados por imersão em água durante 1, 2 e 3 horas (b). AL0 – sem adição de lignina, AL10 – 10% de lignina, AL15 – 15% de lignina, AL20 – 20% de lignina.

Fonte: Elaborada pela Autora (2025).

O resultado de absorção de água relatado por Qin *et al.* (2023) [155] foram melhores aos observados neste estudo. Neste trabalho, os autores produziram biocompósitos a partir de partículas de bambu, e após 24 horas de imersão em água, o aumento de peso do material foi de 67%. A abordagem utilizada por esses autores é semelhante à adotada neste estudo, pois nenhum adesivo sintético foi adicionado. No entanto, eles utilizaram um tempo de prensagem de 13,5 horas, consideravelmente superior ao tempo de prensagem de 20 minutos empregado neste trabalho. Essa diferença pode ser explicada pelo fato de que tempos de prensagem mais longos favorecem a reorganização estrutural e a compactação da matriz do biocompósito, proporcionando uma melhor redistribuição dos componentes e a eliminação da umidade residual. Além disso, o prolongamento da prensagem melhora a estabilidade dimensional e a coesão interna do material, reduzindo sua porosidade e potencialmente aumentando sua resistência.

Fatores como o tipo de material (madeireiro ou agrícola), o tamanho das partículas, as condições de tratamento e prensagem, além da adição de componentes adesivos, são determinantes para a hidrofobicidade do biocompósito. No caso do material, espécies madeireiras possuem maior teor de

lignina, que atua como adesivo e agente hidrofóbico na superfície do biocompósito, o que torna a superfície do biocompósito lisa e plana. Esse parâmetro pode ser aprimorado por um tratamento prévio, que modifica a organização da matriz lignocelulósica, possibilitando maior exposição das fibras de celulose, as quais, durante a prensagem a quente, podem ser revestidas pela lignina. O tamanho das partículas também influencia a compactação do material, sendo que partículas menores reduzem a porosidade [147,141].

5.7.3 Característica de superfície e Resistência à água dos biocompósitos

As imagens do ângulo de contato para todos os biocompósitos, variando de 0 a 15 segundos, estão apresentadas na **Figura 28**. O ângulo de contato é um indicador da hidrofobicidade da superfície do biocompósito: valores de θ superiores a 90° indicam maior hidrofobicidade, enquanto menor o ângulo formado, mais hidrofílico é o material. Para obter um biocompósito mais resistente à água e com maior estabilidade dimensional, é preferível que o ângulo de contato seja maior.

Os resultados obtidos indicam que, quanto maior o incremento de lignina na formação dos biocompósitos, maior o caráter hidrofóbico do material. Para a amostra AL0%, observou-se que, após a deposição da gota sobre a superfície, a água foi rapidamente absorvida, impossibilitando a captura da imagem da superfície, nem mesmo após 5 segundos. Esses resultados sugerem que a adição de lignina reduziu os grupos hidroxilas livres, tornando o material mais estável. Os melhores resultados foram obtidos para as amostras AL15% e AL20%, o que era esperado, uma vez que essas amostras apresentaram maior teor de lignina incorporado, tornando a superfície do biocompósito mais lisa e plana, protegida por uma camada de lignina.

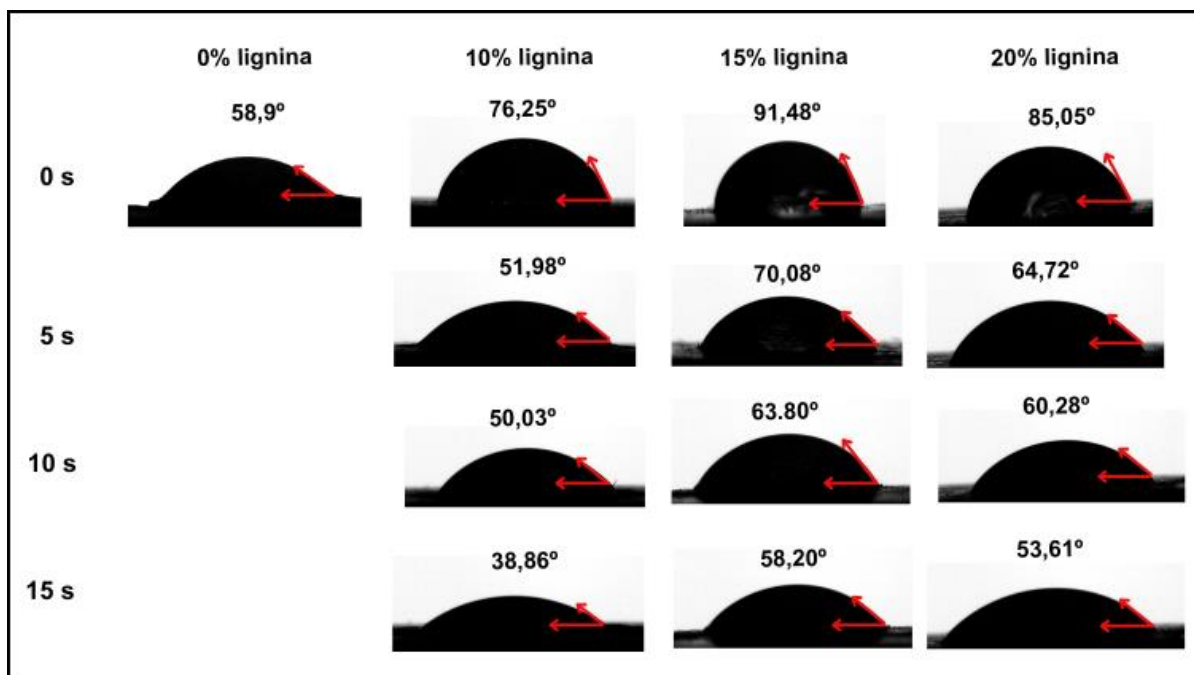


Figura 28 - Imagens de ângulos de contato em 0, 5, 10 e 10 s dos biocompósitos produzidos. AL0 – sem adição de lignina, AL10 – 10% de lignina, AL15 – 15% de lignina, AL20 – 20% de lignina.

Fonte: Elaborada pela Autora (2024).

Os ângulos de contato finais dos biocompósitos com 20% ($\theta=53,01^\circ$), 15% ($\theta=58,20^\circ$) e 10% ($\theta=38,86^\circ$) de lignina foram significativamente melhores do que o biocompósito preparado sem adição de lignina ($\theta=0^\circ$). Esse resultado pode ser atribuído, além da adição de lignina, à fusão desta com os outros componentes do biocompósito durante o processo de prensagem a alta pressão e temperatura, seguida de resfriamento, o que permitiu a formação de uma camada de lignina na superfície [177].

Os resultados obtidos neste estudo estão alinhados com alguns trabalhos da literatura que utilizaram resíduos agrícolas [140,200]. Faria *et al.* (2024) [182] produziram biocompósitos a partir de palha de feijão e partículas de seringueira, utilizando um adesivo de poliuretano vegetal, como proposta para um material isolante sustentável. O ângulo de contato medido por esses autores variou entre 78° e 95° . Em um outro estudo, Nadhari *et al.* (2024) [157] avaliou o efeito da adição de amido de batata em biocompósitos de fibras de kenaf. O ângulo de contato para o biocompósito produzido apenas com kenaf o ângulo de contato foi menor ($\sim 60^\circ$) do que o biocompósito com adição de 10% amido de batata

(80°). Sendo observado que com o aumento adicional da proporção de amido de batata, o ângulo de contato da água diminuiu.

5.7.4 Morfologia de superfície dos biocompósitos

A topografia da superfície dos biocompósitos, analisada por MEV em uma escala de 100 μm , está apresentada nas **Figuras 29a-h**. As imagens mostram que, após a prensagem a quente, os poros da polpa celulósica colapsaram e se sobrepuseram em diferentes graus. Em todas as amostras, os grandes poros intersticiais entre as fibras desapareceram, restando apenas pequenas lacunas localizadas.

Na amostra AL0%, ainda é possível observar alguns vazios entre as fibras. Entretanto, com o aumento na quantidade de lignina, observa-se a formação de uma camada continua sobre a superfície do biocompósito, intercalada com as fibras colapsadas, o que sugere uma maior coesão estrutural. Na amostra AL20%, essa camada se torna mais extensa, tornando as fibras praticamente invisíveis. Esse aglomerado compactado de fibras favorece características benéficas para o biocompósito, como a redução da difusão de água para o interior do material, conferindo maior resistência à umidade.

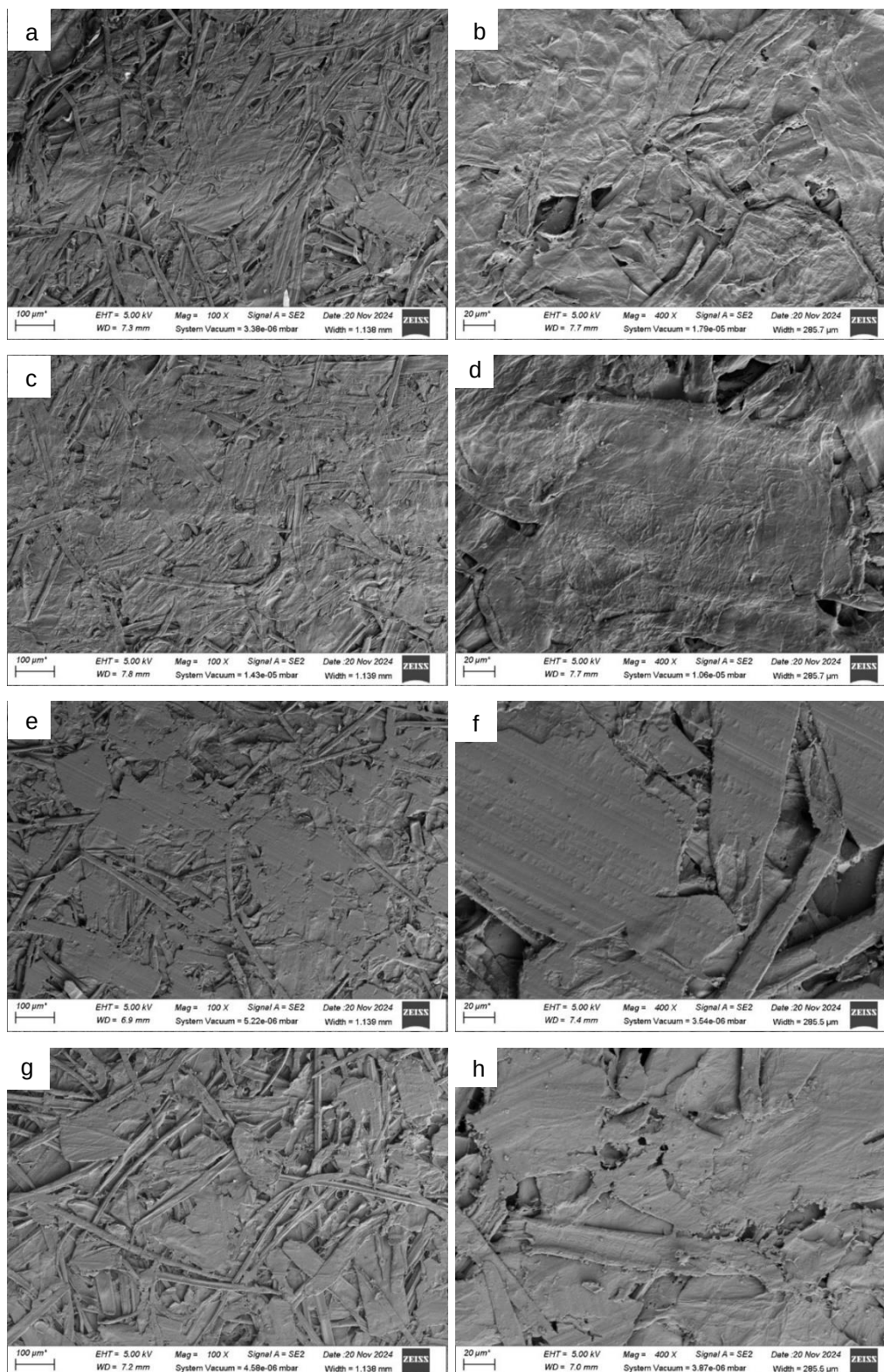


Figura 29 - Imagens de MEV da superfície frontal do biocompósito sem adição de lignina (a) com ampliação de 100x, superfície frontal do biocompósito sem adição de lignina com ampliação de 400x (b), superfície frontal do biocompósito 10% de lignina com ampliação de 100x (c), superfície frontal do biocompósito 10% de lignina com ampliação de 400x (d), superfície frontal do biocompósito 15% de lignina com ampliação de 100x (e), superfície frontal do biocompósito 15% de lignina com ampliação de 400x (f), superfície frontal do biocompósito 20% de lignina com ampliação de 100x (g), superfície frontal do biocompósito 20% de lignina com ampliação de 400x (h).

Fonte: Elaborada pela Autora (2024).

5.7.3 Características químicas da estrutura dos biocompósitos por FT-IR

Os grupos químicos presentes na biomassa “in natura” e nos biocompósitos foram analisados por espectroscopia FT-IR. Conforme ilustrado na **Figura 30**, observa-se as variações das bandas de absorção entre as amostras, indicando a presença de grupos funcionais químicos. A banda vibracional de alongamento na região de 3356 cm^{-1} corresponde às hidroxilas, tanto na forma ligada quanto livre [177]. A forma livre é característica das ligações intramoleculares e intermoleculares O-H da celulose, hemicelulose e lignina. Para a amostra 0%AL, esse pico aparece de forma forte e ampla, enquanto nas amostras com adição de lignina (10%AL, 15%AL e 20%AL), o pico se apresenta com menor intensidade. Além disso, o pico vibracional observado na biomassa “in natura”, em 1739 cm^{-1} , corresponde ao alongamento das ligações carbonila, atribuído aos grupos acetil e carboxil da celulose [219].

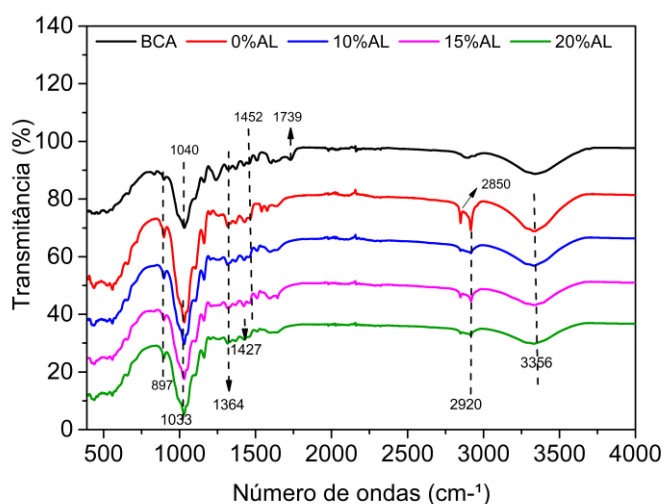


Figura 30 - Espectros FTIR da biomassa “in natura” de cana-de-açúcar e dos biocompósitos formados. AL0 – sem adição de lignina, AL10 – 10% de lignina, AL15 – 15% de lignina, AL20 – 20% de lignina.

Fonte: Elaborada pela Autora (2024).

As amostras apresentaram picos em 2920 cm^{-1} e 2850 cm^{-1} , atribuídos a vibrações de alongamento C-H dos grupos $\text{CH}_2 + \text{CH}_3$ e metoxi ($-\text{OCH}_3$) [192]. Observa-se que essas bandas são significativamente mais intensas na amostra 0%AL. Os biocompósitos exibem uma vibração em 1364 cm^{-1} , característica de deformação do O-H fenólico, enquanto as bandas observadas em 1427 cm^{-1}

correspondem à vibração do anel aromático para a unidade fenilpropano [192], o que justifica a maior intensidade para a biomassa “in natura”. A redução observada no pico de 897 cm^{-1} pode estar relacionada à diminuição da celulose e hemicelulose durante o pré-tratamento alcalino. Esse pico é característico das vibrações de deformação fora do plano da ligação C-H da celulose amorfa e das estruturas β -glicosídicas, indicando que o tratamento alcalino promoveu a degradação parcial desses componentes [220]. Por outro lado, a banda em 1452 cm^{-1} está associada à deformação assimétrica das ligações C-H da lignina e da estrutura aromática [177]. Junto a essa banda, que pode indicar um aumento relativo de lignina nos biocompósitos, observa-se também o pico correspondente ao alongamento do anel aromático para a biomassa “in natura” em 1040 cm^{-1} [161]. No entanto, para os biocompósitos submetidos à moldagem térmica, essa banda desloca-se para uma região de menor número de onda, em 1032 cm^{-1} , correspondente ao alongamento da ligação C-O no grupo carboxila e à formação de ligações C-OH [177]. Essa observação sugere a formação de ligações de hidrogênio entre a celulose e a lignina.

Em resumo, as bandas observadas confirmam que a etapa de tratamento químico seguida de prensagem a quente resultou na remoção da hemicelulose e no aumento relativo de lignina. Esse aumento está associado à adição de lignina na formulação dos biocompósitos. Durante a prensagem a alta pressão e temperatura, a lignina passou por um processo de transição vítrea e, juntamente com a celulose, formou ligações químicas mais fortes, por meio de ligações de hidrogênio, éster e éter [161], contribuindo para o sucesso do processo de autoligação do biocompósito.

5.7.6 Propriedades mecânicas dos biocompósitos

As **Figuras 31a-b** mostram as propriedades mecânicas, incluindo o módulo de flexão e a resistência à flexão dos biocompósitos gerados, que também estão resumidas na **Tabela 14**. A resistência à flexão refere-se à capacidade de um material suportar forças ou cargas aplicadas que tendem a deformá-lo. Neste estudo, é apresentada a resistência à flexão máxima, ou módulo de ruptura, que corresponde à carga máxima que o material suporta antes de falhar. Este parâmetro é amplamente utilizado para avaliar a rigidez e

a resistência mecânica de materiais, especialmente em aplicações onde estão sujeitos a flexão. Fornecendo informações essenciais sobre a capacidade do material de suportar deformações sem comprometer sua integridade estrutural, sendo um fator determinante na escolha de materiais. A **Figura 31a** mostra que a resistência à flexão dos biocompósitos produzidos com a adição de lignina superou a dos biocompósitos tratados quimicamente e prensados a quente, que apresentaram uma resistência à flexão de 14,84 MPa. A adição de lignina aos biocompósitos seguiu uma tendência crescente, alcançando a resistência à flexão máxima com 15% de lignina reintroduzida (56,06 MPa). No entanto, observou-se uma queda na resistência quando a quantidade de lignina foi aumentada para 20% (22,39 MPa). A Norma Nacional Chinesa GB/T 17657-2013 define 30 MPa como MOR mínimo portanto, os resultados obtidos para AL15% ultrapassa o valor mínimo recomendado. Esses resultados indicam que a etapa de tratamento químico, a reintrodução de lignina e a prensagem a alta pressão e temperatura foram fundamentais para a melhoria das propriedades mecânicas dos biocompósitos produzidos. A análise estatística revelou que houve diferença significativa nos resultados de resistência à flexão entre os grupos com 0% AL e 15% AL. No entanto, não foi observada diferença significativa entre os grupos com 10% AL e 20% AL.

Tabela 13 - Propriedades mecânica dos biocompósitos produzidos a partir da biomassa de cana-de-açúcar

Amostra	Resistência a flexão (MPa)	Deformação (%)	Módulo de flexão (GPa)
0% AL	14,84±0,07	3,22±0,45	1,14±0,01
10%AL	23,87±4,14	4,11±0,21	0,95±0,02
15%AL	56,06±1,23	1,97±0,14	1,42±0,06
20%AL	22,39±0,89	4,79±0,89	0,59±0,14

Fonte: Elaborada pela Autora (2024)

Por outro lado, o módulo de flexão mede a capacidade do material de resistir à deformação elástica sob carga de dobramento. Os resultados para esse parâmetro não seguiram uma tendência clara, sugerindo que a adição de diferentes quantidades de lignina teve efeitos variados no biocompósito. Observou-se que os biocompósitos com 0%AL e 10%AL apresentaram

deformações semelhantes à deformação elástica, de 3,22% e 4,11%, respectivamente. No entanto, para as amostras AL15% e AL20%, as deformações foram mais próximas da deformação plástica, com valores de 1,97% e 2,45%, respectivamente. Esse comportamento pode ser atribuído ao efeito de reforço proporcionado pela lignina, que aumentou a capacidade do biocompósito de resistir à carga máxima antes de quebrar, embora tenha resultado em uma menor deformação suportada.

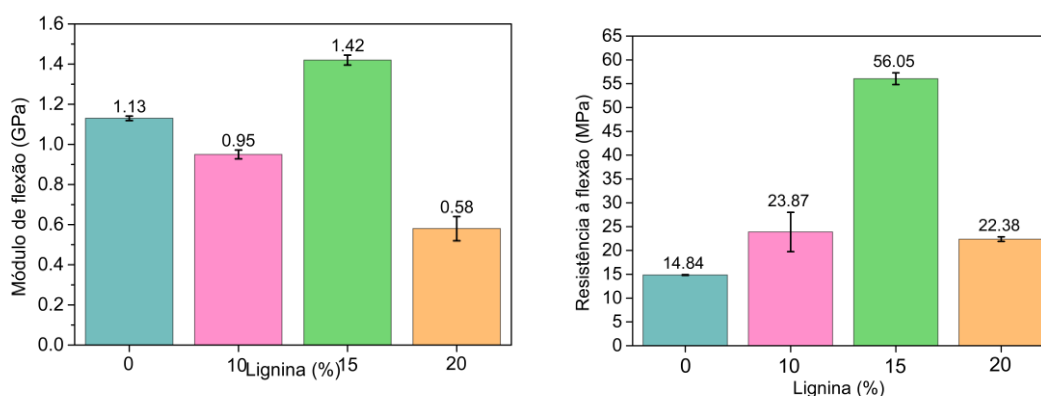


Figura 31 - Desempenho quanto a resistência à flexão dos biocompósitos gerados a diferentes pressões operacional (8, 24 e 40 MPa) e diferentes temperaturas (160, 180, 200°C). AL0 – sem adição de lignina, AL10 – 10% de lignina, AL15 – 15% de lignina, AL20 – 20% de lignina.

Fonte: Elaborada pela Autora (2024).

Neste estudo, a adição de uma solução de lignina a 15% resultou em um aumento significativo de 277,76%. A melhoria nas propriedades mecânicas está associada à presença de grupos funcionais como hidroxilas, metoxilas, carbonilas [180] e grupos carboxílicos na fração polimérica da lignina, os quais formam ligações de hidrogênio e covalentes com as fibras da polpa celulósica. Isso resulta em uma melhoria geral na interface entre as fibras. Os resultados obtidos neste estudo superaram os descritos por Astari *et al.* (2024) [194] que produziram biocompósitos a partir de palha de milho com diferentes quantidades de ácido cítrico. A resistência à flexão das amostras dessa pesquisa variou entre 7,34 e 14,74 MPa. Em uma abordagem similar a realizada nesse estudo, Domínguez-Robles *et al.* (2018) [180] produziram biocompósitos a partir de palha de trigo e lignina alcalina (2,5 – 15%) o qual atingiu uma resistência à

flexão de 41,70 – 96,81 MPa. Os resultados obtidos podem estar relacionados com o maior tempo de prensagem a quente a alta temperatura.

5.5.7 Análise térmica dos biocompósitos

As análises termogravimétricas foram realizadas para avaliar a estabilidade térmica da biomassa de cana-de-açúcar “in natura” e dos biocompósitos, além de verificar se a adição de lignina melhorou a resistência à degradação durante o processo de combustão. Os resultados da análise de TG estão representados na **Figura 32a**. Observa-se que a curva da biomassa “in natura” (BCA) difere do comportamento observado nas curvas dos biocompósitos. A amostra de BCA sofre uma degradação inicial de 3,92% por volta de 80°C, o que pode ser atribuído à remoção de umidade da amostra. Esse primeiro estágio de degradação é esperado para biomassa “in natura” [156]. Já para os biocompósitos, essa degradação inicial não é observada. Este resultado é esperado uma vez que as amostras passaram por uma prensagem a alta temperatura.

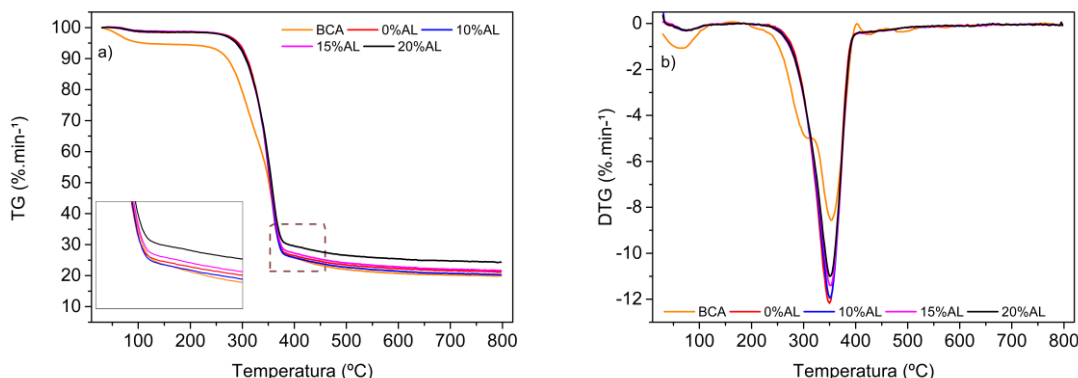


Figura 32 - Análise termogravimétrica (TGA) (a) e curvas de análise térmica diferencial (DTG) da biomassa “in natura”, 0%AL, 10%AL, 15%AL e 20%AL (b).

Fonte: Elaborada pela Autora (2024).

A análise termogravimétrica (TG) revelou que a degradação significativa dos biocompósitos e da biomassa “in natura” ocorre entre 250°C e 500°C. Este segundo estágio de degradação é atribuído à decomposição térmica da celulose e hemicelulose presentes nas fibras [156,172]. Observou-se que a temperatura de degradação dos biocompósitos foi ligeiramente superior à da biomassa “in

natura”, alinhando-se com resultados relatados na literatura para outros biocompósitos produzidos a partir de subprodutos agrícolas [182]. A perda de massa da biomassa “in natura” nessa etapa foi de 73,25%, enquanto para os biocompósitos AL0%, AL10%, AL15% e AL20%, os valores foram de 71,67%, 73,04%, 71,57% e 70,07%, respectivamente. Essa redução ligeiramente menor na perda de massa dos biocompósitos sugere uma maior estabilidade térmica, possivelmente devido às etapas de tratamento químico e prensagem a alta pressão e temperatura, combinadas com a adição de lignina. Essa reforma estrutural é mais evidente na amostra AL20%, que apresentou a menor perda de massa, destacando a estabilidade térmica superior conferida pela lignina e as alterações estruturais na composição final do biocompósito [177]. O terceiro estágio de degradação, conhecido como pirólise lenta ou carbonização, ocorre geralmente a partir de 400°C e é predominantemente associado à degradação da lignina residual. Nesse ponto, as curvas tendem a estabilizar. As amostras tratadas quimicamente demonstraram maior estabilidade térmica em comparação às não tratadas, resultado do efeito do tratamento químico, que promove a condensação da lignina e intensifica as ligações de hidrogênio internas [182]. A quantidade final observada ao fim da análise foi um conteúdo de 19,91% para a biomassa “in natura” e de 21,18; 20,32; 21,66 e 24,31% para AL0%, AL10%, AL15% e AL20%, respectivamente. Isso acontece porque a lignina é capaz de formar uma camada carbonizada densa na superfície do biocompósito durante o processo de prensagem a quente, atuando como uma barreira que impede a chama de consumir o material [219]. A curva de DTG (**Fig. 32b**) indicou que a taxa máxima de degradação da biomassa “in natura” e dos biocompósitos ocorreu por volta de 350°C. Entretanto, na biomassa “in natura”, observa-se um ombro de degradação entre 250°C e 300°C, atribuído à decomposição da hemicelulose. Esse ombro não está presente nos biocompósitos, o que se deve à remoção parcial da hemicelulose durante o tratamento químico e à degradação das hemiceluloses em compostos de baixo peso molecular durante a prensagem a quente [171]. O resultado observado neste estudo é consistente com a degradação térmica, de trabalhos descritos na literatura [221-223].

5.6 Avaliação dos cenários propostos

Os dois cenários para uma biorrefinaria de biomassa de cana-de-açúcar, apresentados no fluxograma (**Figura 33**), possuem abordagens distintas, cada um com vantagens e desafios específicos. No primeiro cenário, ocorre uma etapa de pré-tratamento químico com ácido diluído para a hidrólise dos açúcares hemicelulósicos (xilose, glicose e arabinose), que são então utilizados na produção de biolipídios por cepas de leveduras oleaginosas. Esse processo envolve o fracionamento da biomassa, a adaptação das leveduras ao hidrolisado hemicelulósico para garantir seu crescimento no meio, a fermentação em hidrolisado sem destoxificar suplementado com nutrientes – especialmente fontes de nitrogênio, essencial para o crescimento celular –, além da extração e quantificação dos biolipídios acumulados intracelularmente. O processo demonstrou vantagens como a eficiente metabolização de xilose, a capacidade das leveduras de crescer e produzir lipídios mesmo na presença de compostos inibitórios presentes no hidrolisado e o potencial dos biolipídios como substitutos de óleos vegetais para a produção de biodiesel ou utilização na indústria farmacêutica. No entanto, há desafios a serem superados, como a necessidade de otimização do processo fermentativo para aumentar o acúmulo de lipídios e o desenvolvimento de alternativas ambientalmente mais sustentáveis para a extração dos biolipídios.

No segundo cenário, a fração celulósica-lignina do bagaço é utilizada para a produção de biocompósitos sustentáveis, sem adição de adesivos de origem fóssil. O processo envolve o tratamento químico para a remoção parcial da lignina e exposição das fibras de celulose, seguido da precipitação e recuperação da lignina do licor negro. Em seguida, essa lignina recuperada é incorporada à polpa celulósica, e o material é submetido a prensagem sob alta pressão e temperatura, promovendo a redução da porosidade do biocompósito e estimulando sua autoadesão. Entre as vantagens desse processo, destacam-se a produção de materiais renováveis com alta resistência à flexão (MOR), superfície hidrofóbica e potencial para substituir biocompósitos derivados de fontes fósseis em aplicações *indoor* e decorativas. Entretanto, desafios como absorção de água, inchaço em espessura e a otimização do processo de recuperação da lignina ainda precisam ser superados.

Além desses dois cenários, um terceiro caminho possível dentro dessa biorrefinaria integrada seria o aproveitamento da celulignina residual da produção de biolipídios para a fabricação de biocompósitos. Após a fermentação da fração hemicelulósica para a obtenção de lipídios, a celulose-lignina remanescente poderia ser recuperada, processada e moldada em biocompósitos, promovendo um melhor aproveitamento da biomassa e reforçando o conceito de economia circular.

O desenvolvimento dos cenários propostos nesta biorrefinaria de biomassa de cana-de-açúcar está alinhado com diversos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS), contribuindo de maneira significativa para a sustentabilidade e a economia circular. A conversão eficiente da biomassa em biolipídios e biocompósitos reduz a dependência de insumos fósseis e promove um modelo de produção mais sustentável, minimizando impactos ambientais e agregando valor a resíduos agroindustriais. Considerando os cenários propostos, a produção de biolipídios a partir de biomassa pode contribuir para a substituição de combustíveis fósseis, viabilizando a produção de biodiesel e fortalecendo a transição para fontes renováveis de energia (ODS 7 - Energia Acessível e Limpa). A pesquisa e o desenvolvimento de novos bioprodutos impulsionam a inovação industrial, possibilitando a criação de materiais sustentáveis com aplicações de alto valor agregado (ODS 9 - Indústria, Inovação e Infraestrutura). A valorização de resíduos lignocelulósicos por meio da produção de biocompósitos e biolipídios reforça a economia circular, reduzindo desperdícios e promovendo um uso mais eficiente dos recursos naturais (ODS 12 - Consumo e Produção Responsáveis). A substituição de insumos de origem fóssil por bioprodutos sustentáveis contribui para a redução das emissões de gases de efeito estufa, mitigando os impactos das mudanças climáticas (ODS 13 - Ação Contra a Mudança Global do Clima). O aproveitamento integral da biomassa e a redução da dependência de materiais derivados de petróleo ajudam a preservar ecossistemas e reduzir a degradação ambiental (ODS 15 - Vida Terrestre). Dessa forma, está proposta não apenas propõe soluções tecnológicas inovadoras para o aproveitamento da biomassa de cana-de-açúcar, mas também contribui significativamente para a transição para um modelo industrial mais sustentável, alinhado com os princípios da bioeconomia e da economia circular. A implementação desses cenários em escala comercial

poderia representar um avanço estratégico para o setor agroindustrial, combinando viabilidade econômica com benefícios ambientais de longo prazo.

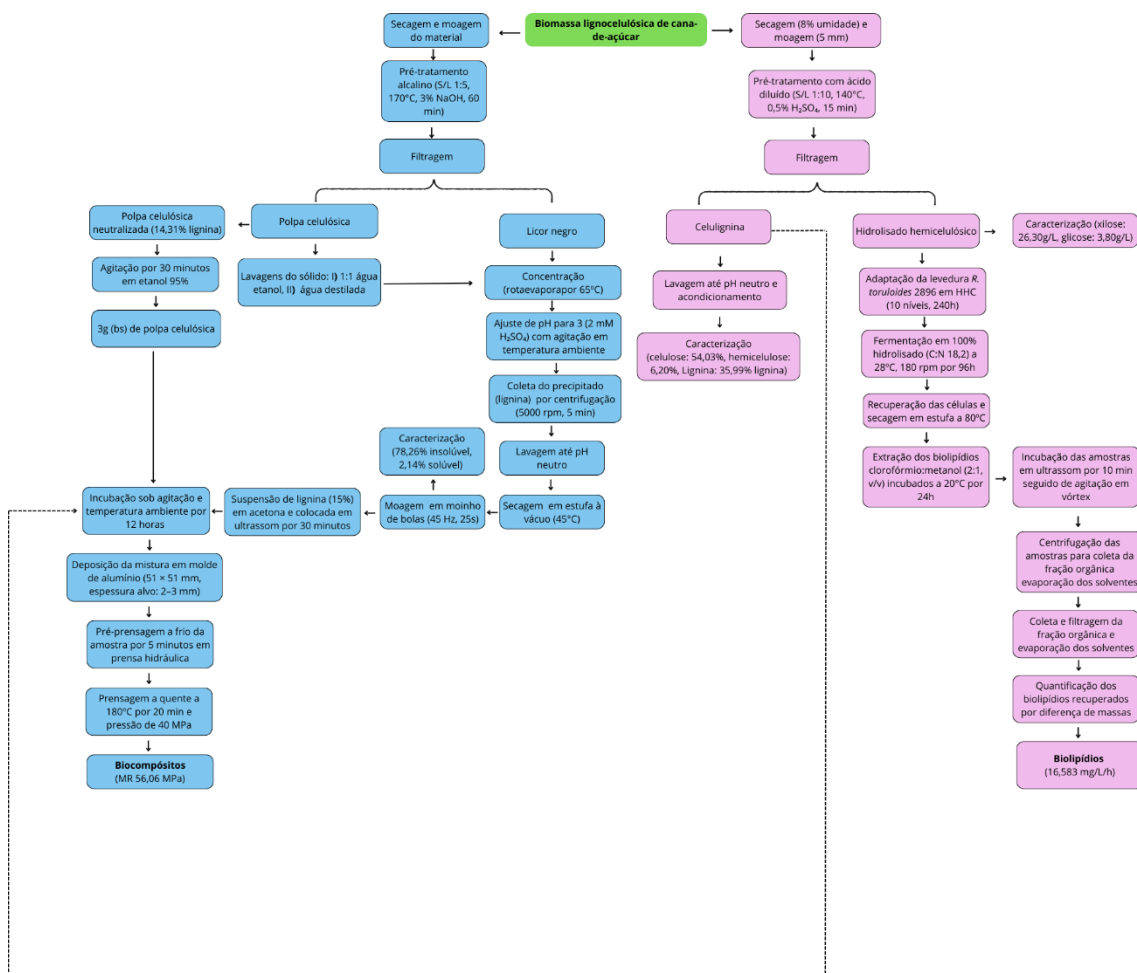


Figura 33 - Fluxograma descritivo dos cenários propostos para integração de processos considerando o conceito de uma biorrefinaria de cana-de-açúcar.

Fonte: Elaborada pela Autora (2025).

6. CONCLUSÕES

Com o desenvolvimento desta pesquisa, foram obtidas as seguintes conclusões:

Cenário 1: FERMENTAÇÃO DE AÇÚCARES HEMICELULÓSICOS PARA PRODUÇÃO DE LIPÍDIOS POR *Rhodosporidium Toruloides*

- A composição do hidrolisado utilizado influenciou significativamente o metabolismo das leveduras empregadas, destacando a importância da adaptação para superar os níveis inibitórios de compostos de degradação presentes no hidrolisado. Essa adaptação reduziu a fase *lag*, favorecendo o crescimento microbiano e a produção de lipídios pelas leveduras de *R. toruloides*. A estratégia adotada promoveu a sustentabilidade do bioprocessos, ao utilizar matérias-primas renováveis e eliminar a necessidade de etapas adicionais de destoxificação.
- Entre as cepas testadas, *R. toruloides* 2896 apresentou maior capacidade de produzir lipídios a partir de hidrolisado hemicelulósico. A diferença de performance fermentativa entre as cepas adaptadas e não-adaptadas evidenciou o impacto dos inibidores na conversão do substrato utilizado em produto. Além disso, *R. toruloides* 2896 destacou-se pela maior produtividade ($Q_P = 16,58 \text{ mg.L.h}^{-1}$), demonstrando eficiência superior na assimilação da fonte de carbono e na conversão em lipídeos.

Cenário 2: DESENVOLVIMENTO DE BIOCOMPÓSITOS À BASE DE CELULOSE-LIGNINA

- A biomassa de cana-de-açúcar foi utilizada com sucesso como matéria-prima para a produção de biocompósitos de qualidade, empregando uma abordagem que integrou extração, tratamento alcalino e moldagem a quente. Os biocompósitos obtidos com a reintrodução de lignina apresentaram propriedades físicas e químicas superiores em comparação àqueles produzidos sem reintrodução de lignina.

- O processo de formação dos biocompósitos incluiu a remoção de hemicelulose e componentes não fibrosos, a redução parcial da lignina a partir de tratamento químico alcalino, seguida pela reintrodução de lignina e prensagem a quente. Essa abordagem promoveu a formação de novas ligações químicas e a redução de porosidade, resultando em uma estrutura mais densa e compacta, com melhor desempenho mecânico e maior resistência à umidade quando comparado ao biocompósito sem reintrodução de lignina.
- O desenvolvimento dos cenários propostos para uma biorrefinaria de biomassa de cana-de-açúcar evidencia a viabilidade de transformar subprodutos agroindustriais em produtos de alto valor agregado, promovendo um modelo mais sustentável e alinhado aos princípios da bioeconomia. A conversão dos açúcares presentes na fração hemicelulósica em biolipídios e o aproveitamento da fração celulósico-lignina para a fabricação de biocompósitos demonstram estratégias complementares para a valorização da biomassa, reduzindo desperdícios e otimizando o aproveitamento de seus constituintes. Além das vantagens individuais de cada processo, a possibilidade de integração desses cenários em uma única biorrefinaria reforça o conceito de economia circular, onde os resíduos de uma etapa podem ser reaproveitados como matéria-prima para outra. Essa abordagem maximiza a eficiência do uso da biomassa e reduz a dependência de insumos de origem fóssil, ao mesmo tempo em que abre oportunidades para o desenvolvimento de novos materiais sustentáveis com aplicações industriais diversas.

REFERÊNCIAS

1. V. Narisetty, R. Cox, R. Bommarreddy, D. Agrawal, E. Ahmad, K. K. Pant, A. K. Chandel, S. K. Bhatia, D. Kumar, P. Binod, V. K. Gupta, & V. Kumar, Valorisation of xylose to renewable fuels and chemicals, an essential step in augmenting the commercial viability of lignocellulosic biorefineries. *Sustainable Energy and Fuels*, **6** (2022) 29–65. <https://doi.org/10.1039/d1se00927c>.
2. U. . Department of Agriculture, Foreign Agricultural Service. *Production - Sugar*, (2025).
3. A. Corrêa do Lago, A. Bonomi, O. Cavalett, M. Pereira da Cunha, & M. A. Pinheiro Lima, Sugarcane as a carbon source: The Brazilian case. *Biomass and Bioenergy*, **46** (2012) 5–12. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2012.09.007>.
4. A. Fioranelli & W. A. Bizzo, Generation of surplus electricity in sugarcane mills from sugarcane bagasse and straw: Challenges, failures and opportunities. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, **186** (2023) 1–18. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2023.113647>.
5. M. Balat, Production of bioethanol from lignocellulosic materials via the biochemical pathway: A review. *Energy Conversion and Management*, **52** (2011) 858–875. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2010.08.013>.
6. J. J. Cheng & G. R. Timilsina, Status and barriers of advanced biofuel technologies: A review. *Renewable Energy*, **36** (2011) 3541–3549. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2011.04.031>.
7. R. Yamada, A. Yamauchi, T. Kashihara, & H. Ogino, Evaluation of lipid production from xylose and glucose/xylose mixed sugar in various oleaginous yeasts and improvement of lipid production by UV mutagenesis. *Biochemical Engineering Journal*, **128** (2017) 76–82. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2017.09.010>.
8. A. Patel, N. Arora, K. Sartaj, V. Pruthi, & P. A. Pruthi, Sustainable biodiesel production from oleaginous yeasts utilizing hydrolysates of various non-edible lignocellulosic biomasses. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, **62** (2016) 836–855. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2016.05.014>.
9. W. Zhang, Y. Ma, C. Wang, S. Li, M. Zhang, & F. Chu, Preparation and

- properties of lignin-phenol-formaldehyde resins based on different biorefinery residues of agricultural biomass. *Industrial Crops and Products*, **43** (2013) 326–333. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.07.037>.
10. W. V. Maroldi, I. de A. A. Fernandes, B. Demczuk Junior, A. C. Pedro, G. M. Maciel, & C. W. I. Haminiuk, Waste from the food industry: Innovations in biorefineries for sustainable use of resources and generation of value. *Bioresource Technology*, **413** (2024) 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2024.131447>.
 11. P. Chakraborty, R. Kumar, S. Chakraborty, S. Saha, S. Chattaraj, S. Roy, A. Banerjee, S. K. Tripathy, A. Kumar Ghosh, & B. H. Jeon, Technological advancements in the pretreatment of lignocellulosic biomass for effective valorization: A review of challenges and prospects. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, **137** (2024) 29–60. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2024.03.025>.
 12. A. Devi, S. Bajar, H. Kour, R. Kothari, D. Pant, & A. Singh, Lignocellulosic Biomass Valorization for Bioethanol Production: a Circular Bioeconomy Approach. *Bioenergy Research*, **15** (2022) 1820–1841. <https://doi.org/10.1007/s12155-022-10401-9>.
 13. J. B. Sluiter, H. Chum, A. C. Gomes, R. P. A. Tavares, V. Azevedo, M. T. B. Pimenta, S. C. Rabelo, K. Marabezi, A. A. S. Curvelo, A. R. Alves, W. T. Garcia, W. Carvalho, P. J. Esteves, S. Mendonça, P. A. Oliveira, J. A. A. Ribeiro, T. D. Mendes, M. P. Vicentin, C. L. Duarte, & M. N. Mori, Evaluation of Brazilian Sugarcane Bagasse Characterization: An Interlaboratory Comparison Study. *Agricultural Materials*, **99** (2016) 579–585. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.15-0063>.
 14. R. Shafiei-Alavijeh, M. Aghbashlo, M. Tabatabaei, J. F. M. Denayer, & K. Karimi, A critical review of sustainable biorefineries utilizing high-solid processing for industrial crop lignocellulosic wastes valorization. *Industrial Crops and Products*, **211** (2024) 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2024.118236>.
 15. S. Dutta & S. Pal, Promises in direct conversion of cellulose and lignocellulosic biomass to chemicals and fuels: Combined solvent-nanocatalysis approach for biorefinary. *Biomass and Bioenergy*, **62** (2014) 182–197. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2013.12.019>.

16. G. Zhang, S. Liu, D. Bi, Z. He, J. Liu, & Y. Liu, Effect of pretreatment with hydrogen peroxide at different pHs on corn stalk : Characterizations of structure , composition , and pyrolysis properties. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, **177** (2024) 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2023.106274>.
17. S. He, S. Wang, J. Wang, Z. Abbas, B. Yan, G. Chen, & Z. Cheng, Study on synergistic effect and reaction pathway in the co-hydrothermal liquefaction of cattle manure and corn cob based on principal component analysis. *Biomass and Bioenergy*, **186** (2024) 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2024.107264>.
18. F. B. P. . Carvalho, D. S. . Rodrigues, F. . Machado, & R. Gambetta, Autohydrolysis of sugarcane bagasse with water reuse: Impacts on residues ' composition and enzymatic hydrolysis. *Sustainable Chemistry for the Environment*, **6** (2024) 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.scenv.2024.100097>.
19. H. Najafi, A. Golrokh Sani, & M. A. Sobati, A comparative evaluation on the physicochemical properties of sugarcane residues for thermal conversion processes. *Industrial Crops and Products*, **202** (2023) 1–23. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2023.117112>.
20. W. Qin, H. Yu, J. Shi, Y. Liang, X. Pan, M. Xu, H. Wang, & M. Qiang, Effects of microwave-assisted softening treatment on dynamic mechanical properties and chemical composition of bamboo. *Materials Today Communications*, **39** (2024) 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2024.108880>.
21. I. Samomssa, R. Domga, H. Pahimi, P. N. Lemougna, A. A. Samitna, & U. Chinje, The effect of corn cob, cotton shell and rice straw mixture during carbonization on charcoal yield using mixture design. *Journal of the Indian Chemical Society*, **101** (2024) 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.jics.2024.101498>.
22. E. E. Mbamalu & I. Y. Mohammed, Co-valorisation of cassava peel and rice husk to biofuel precursor via intermediate pyrolysis: Kinetics, thermodynamic and pyrolytic oil characterisation. *Waste Management Bulletin*, **2** (2024) 194–208. <https://doi.org/10.1016/j.wmb.2024.11.004>.
23. W. Tang, C. Huang, Z. Ling, & Y. C. He, Enhancing cellulosic digestibility

- of wheat straw by adding sodium lignosulfonate and sodium hydroxide to hydrothermal pretreatment. *Bioresource Technology*, **379** (2023) 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2023.129058>.
24. N. E. Alamdari, B. Aksoy, R. J. Babu, & Z. Jiang, Microcrystalline cellulose from soybean hull as an excipient in solid dosage forms: Preparation, powder characterization, and tableting properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, **270** (2024) 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.132298>.
 25. D. Pradhan, S. Jaiswal, B. K. Tiwari, & A. K. Jaiswal, Choline chloride – oxalic acid dihydrate deep eutectic solvent pretreatment of Barley straw for production of cellulose nanofibers. *International Journal of Biological Macromolecules*, **281** (2024) 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.136213>.
 26. Ú. Fillat, B. Wicklein, R. Martín-Sampedro, D. Ibarra, E. Ruiz-Hitzky, C. Valencia, A. Sarrión, E. Castro, & M. E. Eugenio, Assessing cellulose nanofiber production from olive tree pruning residue. *Carbohydrate Polymers*, **179** (2018) 252–261. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.09.072>.
 27. A. Meas, E. Wi, M. Chang, & H. S. Hwang, Carboxymethyl cellulose produced from wood sawdust for improving properties of sodium alginate hydrogel in dye adsorption. *Separation and Purification Technology*, **341** (2024) 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2024.126906>.
 28. M. G. Nugraha, E. D. Mozasurya, M. Hidayat, & H. Saptoadi, Evaluation of combustion characteristics in biomass residues open burning. *Materials Today: Proceedings*, **87** (2023) 45–50. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2023.02.098>.
 29. F. Dodangeh, H. Nabipour, S. Rohani, & C. Xu, Applications, challenges and prospects of superabsorbent polymers based on cellulose derived from lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*, **408** (2024) 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2024.131204>.
 30. Y. Zhang, M. Shao, Y. Lin, S. Luan, N. Mao, W. Chen, & M. Wang, Emission inventory of carbonaceous pollutants from biomass burning in the Pearl River Delta Region, China. *Atmospheric Environment*, **76** (2013) 189–199. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2012.05.055>.

31. N. Sarkar, S. K. Ghosh, S. Bannerjee, & K. Aikat, Bioethanol production from agricultural wastes: An overview. *Renewable Energy*, **37** (2012) 19–27. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2011.06.045>.
32. M. A. K. Joyia, M. Ahmad, Y. F. Chen, M. Mustaqeem, A. Ali, A. Abbas, & M. Ashraf Gondal, Trends and advances in sustainable bioethanol production technologies from first to fourth generation: A critical review. *Energy Conversion and Management*, **321** (2024) 1–29. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2024.119037>.
33. E. R. L. Prado & R. C. Rial, Advances in conversion technologies for biofuels from wheat and corn straws. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, **63** (2025) 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2024.103481>.
34. W. A. W. Mahari, K. Waiho, H. Fazhan, M. C. Necibi, J. Hafsa, R. Ben Mrid, S. Fal, H. El Arroussi, W. Peng, M. Tabatabaei, M. Aghbashlo, F. Almomani, S. S. Lam, & M. Sillanpää, Progress in valorisation of agriculture, aquaculture and shellfish biomass into biochemicals and biomaterials towards sustainable bioeconomy. *Chemosphere*, **291** (2022) 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.133036>.
35. R. Y. Kosuru, V. Srinivasan, & M. A. Jhonsi, Biomass-derived potential nano-biomaterials: Protein binding, anti-biofilm activity and bio-imaging. *Journal of Molecular Structure*, **1300** (2024) 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2023.137155>.
36. A. Tran, C. E. Boott, & M. J. MacLachlan, Understanding the Self-Assembly of Cellulose Nanocrystals—Toward Chiral Photonic Materials. *Advanced Materials*, **32** (2020) 1–15. <https://doi.org/10.1002/adma.201905876>.
37. N. F. Islam, B. Gogoi, R. Saikia, B. Yousaf, M. Narayan, & H. Sarma, Encouraging circular economy and sustainable environmental practices by addressing waste management and biomass energy production. *Regional Sustainability*, **5** (2024) 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.regsus.2024.100174>.
38. L. A. Sargeant, M. Mardell, K. M. Saad-Allah, A. H. Hussein, F. Whiffin, F. Santomauro, & C. J. Chuck, Production of lipid from depolymerised lignocellulose using the biocontrol yeast, *rhodotorula minuta*: The fatty acid profile remains stable irrespective of environmental conditions. *European*

- Journal of Lipid Science and Technology*, **118** (2016) 777–787. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201500143>.
39. Z. Usmani, M. Sharma, A. K. Awasthi, T. Lukk, M. G. Tuohy, L. Gong, P. Nguyen-Tri, A. D. Goddard, R. M. Bill, S. C. Nayak, & V. K. Gupta, Lignocellulosic biorefineries: The current state of challenges and strategies for efficient commercialization. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, **148** (2021) 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2021.111258>.
 40. B. Beig, M. Riaz, S. Raza Naqvi, M. Hassan, Z. Zheng, K. Karimi, A. Pugazhendhi, A. E. Atabani, & N. Thuy Lan Chi, Current challenges and innovative developments in pretreatment of lignocellulosic residues for biofuel production: A review. *Fuel*, **287** (2020). <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2020.119670>.
 41. S. B. Jamaldeen, M. B. Kurade, B. Basak, C. G. Yoo, K. K. Oh, B. H. Jeon, & T. H. Kim, A review on physico-chemical delignification as a pretreatment of lignocellulosic biomass for enhanced bioconversion. *Bioresource Technology*, **346** (2022) 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126591>.
 42. J. Zhang, H. Zhou, D. Liu, & X. Zhao, Pretreatment of lignocellulosic biomass for efficient enzymatic saccharification of cellulose. *Lignocellul. Biomass to Liq. Biofuels* (INC, 2019), pp. 17–65. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815936-1.00002-2>.
 43. S. Fernando, S. Adhikari, C. Chandrapal, & N. Murali, Biorefineries: Current status, challenges, and future direction. *Energy and Fuels*, **20** (2006) 1727–1737. <https://doi.org/10.1021/ef060097w>.
 44. J. P. Lange, E. Van Der Heide, J. Van Buijtenen, & R. Price, Furfural-A promising platform for lignocellulosic biofuels. *ChemSusChem*, **5** (2012) 150–166. <https://doi.org/10.1002/cssc.201100648>.
 45. S. Kang, J. Fu, & G. Zhang, From lignocellulosic biomass to levulinic acid: A review on acid-catalyzed hydrolysis. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, **94** (2018) 340–362. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.06.016>.
 46. N. Chen, K. Jiang, M. Zhao, C. Zhang, Y. Jin, & W. Wu, Pretreatment process of lignocellulosic biomass: A review of pseudo-lignin formation. *Biomass and Bioenergy*, **188** (2024) 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2024.107339>.

47. G. Machado, S. Leon, F. Santos, R. Lourega, J. Dullius, M. E. Mollmann, & P. Eichler, Literature Review on Furfural Production from Lignocellulosic Biomass. *Natural Resources*, **07** (2016) 115–129. <https://doi.org/10.4236/nr.2016.73012>.
48. J. Rao, Z. Lv, G. Chen, & F. Peng, Hemicellulose: Structure, chemical modification, and application. *Progress in Polymer Science*, **140** (2023) 1–51. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2023.101675>.
49. A. Brandt, J. Gräsvik, J. P. Hallett, & T. Welton, Deconstruction of lignocellulosic biomass with ionic liquids. *Green Chemistry*, **15** (2013) 550–583. <https://doi.org/10.1039/c2gc36364j>.
50. S. I. Mussatto, Biomass Pretreatment With Acids. *Biomass Fractionation Technol. a Lignocellul. Feed. Based Biorefinery* (Elsevier Inc., 2016), pp. 169–185. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802323-5.00008-6>.
51. C. Huang, Z. Peng, J. Li, X. Li, X. Jiang, & Y. Dong, Unlocking the role of lignin for preparing the lignin-based wood adhesive: A review. *Industrial Crops and Products*, **187** (2022) 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.115388>.
52. Z. Chen, L. Chen, K. S. Khoo, V. K. Gupta, M. Sharma, P. L. Show, & P. S. Yap, Exploitation of lignocellulosic-based biomass biorefinery: A critical review of renewable bioresource, sustainability and economic views. *Biotechnology Advances*, **69** (2023) 1–36. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2023.108265>.
53. C. Amen-chen, H. Pakdel, & C. Roy, Production of monomeric phenols by thermochemical conversion of biomass : a review. **79** (2001).
54. V. K. Garlapati, A. K. Chandel, S. P. J. Kumar, S. Sharma, S. Sevda, A. P. Ingle, & D. Pant, Circular economy aspects of lignin: Towards a lignocellulose biorefinery. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, **130** (2020) 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2020.109977>.
55. A. Agarwal, M. Rana, & J. H. Park, Advancement in technologies for the depolymerization of lignin. *Fuel Processing Technology*, **181** (2018) 115–132. <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2018.09.017>.
56. A. L. Woiciechowski, C. J. Dalmas Neto, L. P. de S. Vandenberghe, D. P. de Carvalho Neto, A. C. N. Sydney, L. A. J. Letti, S. G. Karp, L. A. Z. Torres, & C. R. Soccol, Lignocellulosic biomass: Acid and alkaline pretreatments

- and their effects on biomass recalcitrance – Conventional processing and recent advances. *Bioresource Technology*, **304** (2020) 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122848>.
57. W. Ren, D. Zhang, Y. Zhou, H. Wang, L. Xia, C. Tan, F. Guo, X. Zhang, R. Yang, & Y. Yu, Lignin's complex role in lignocellulosic biomass Recalcitrance: A case study on bamboo. *Chemical Engineering Journal*, **490** (2024) 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2024.151422>.
 58. Q. Xia, C. Chen, Y. Yao, J. Li, S. He, Y. Zhou, T. Li, X. Pan, Y. Yao, & L. Hu, A strong, biodegradable and recyclable lignocellulosic bioplastic. *Nature Sustainability*, **4** (2021) 627–635. <https://doi.org/10.1038/s41893-021-00702-w>.
 59. E. P. Dagnino, F. E. Felissia, E. Chamorro, & M. C. Area, Studies on lignin extraction from rice husk by a soda-ethanol treatment: Kinetics, separation, and characterization of products. *Chemical Engineering Research and Design*, **129** (2018) 209–216. <https://doi.org/10.1016/j.cherd.2017.10.026>.
 60. N. T. Miranda, I. L. Motta, R. Maciel Filho, & M. R. W. Maciel, Sugarcane bagasse pyrolysis: A review of operating conditions and products properties. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, **149** (2021) 1–20. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2021.111394>.
 61. R. A. C. Silva, A. A. V. Julio, O. J. Venturini, J. C. Furtado Júnior, J. C. E. Palacio, & A. M. M. Reyes, Exergoeconomic insights into sugarcane biomass conversion: Integrating thermochemical and biochemical technologies for enhanced efficiency and profitability. *Energy Conversion and Management*, **323** (2025) 1–17. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2024.119232>.
 62. S. Sharma, P. Nargotra, V. Sharma, R. Bangotra, M. Kaur, N. Kapoor, S. Paul, & B. K. Bajaj, Nanobiocatalysts for efficacious bioconversion of ionic liquid pretreated sugarcane tops biomass to biofuel. *Bioresource Technology*, **333** (2021) 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125191>.
 63. Y. Matsueda & E. Antunes, A review of current technologies for the sustainable valorisation of sugarcane bagasse. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, **12** (2024) 1–18. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2024.114900>.

64. CONAB, *Acompanhamento da Safra Brasileira de cana-de-açúcar Safra 2024/25* (2024).
65. V. Mugica-Álvarez, F. Hernández-Rosas, M. Magaña-Reyes, J. Herrera-Murillo, N. Santiago-De La Rosa, M. Gutiérrez-Arzaluz, J. de Jesús Figueroa-Lara, & G. González-Cardoso, Sugarcane burning emissions: Characterization and emission factors. *Atmospheric Environment*, **193** (2018) 262–272. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2018.09.013>.
66. F. Demichelis, M. Laghezza, M. Chiappero, & S. Fiore, Technical, economic and environmental assesement of bioethanol biorefinery from waste biomass. *Journal of Cleaner Production*, **277** (2020). <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.124111>.
67. T. Martins, M. S. de Sá, W. R. Silva, C. C. Schmitt, R. Moreira, K. Raffelt, N. Dahmen, & A. Wisniewski, Sugarcane biorefinery: Unlocking the potential of the pyrolytic process to convert waste biomasses into value-added products. *Energy Conversion and Management*, **318** (2024) 1–18. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2024.118913>.
68. R. Phiri, S. M. Rangappa, & S. Siengchin, Sugarcane bagasse for sustainable development of thermoset biocomposites. *Journal of Polymer Research*, **31** (2024) 1–14. <https://doi.org/10.1007/s10965-024-04168-0>.
69. M. Meghana & Y. Shastri, Sustainable valorization of sugar industry waste: Status, opportunities, and challenges. *Bioresource Technology*, **303** (2020) 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122929>.
70. S. G. C. Almeida, G. F. Mello, T. K. Kovacs, D. D. V. Silva, M. A. M. Costa, & K. J. Dussán, Furfural Production Through Two Bioconversion Routes: Experimental Optimization and Process Simulation. *Waste and Biomass Valorization*, **13** (2022) 4013–4025. <https://doi.org/10.1007/s12649-022-01825-7>.
71. J. P. Souza, H. M. Fogarin, S. G. C. Almeida, B. C. S. Santos, D. D. V. Silva, & K. J. Dussán, Fermentation of Sugarcane Biomass Hemicellulosic Hydrolysate by Yeast-Producer of Xylitol and Ethanol Isolated from the Atlantic Forest and the Brazilian Amazon Forest. *Waste and Biomass Valorization*, **1** (2024) 1–14. <https://doi.org/10.1007/s12649-024-02535-y>.
72. R. Velmurugan & K. Muthukumar, Utilization of sugarcane bagasse for bioethanol production: Sono-assisted acid hydrolysis approach.

- Bioresource Technology*, **102** (2011) 7119–7123. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.04.045>.
73. P. Alvira, E. Tomás-Pejó, M. Ballesteros, & M. J. Negro, Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review. *Bioresource Technology*, **101** (2010) 4851–4861. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.11.093>.
 74. A. T. Ubando, C. B. Felix, & W. H. Chen, Biorefineries in circular bioeconomy: A comprehensive review. *Bioresource Technology*, **299** (2020) 1–18. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122585>.
 75. S. H. Lee, W. C. Lum, J. G. Boon, L. Kristak, P. Antov, M. Pedzik, T. Rogozinski, H. R. Taghiyari, M. A. R. Lubis, W. Fatriasari, S. M. Yadav, A. Chotikhun, & A. Pizzi, Particleboard from agricultural biomass and recycled wood waste: a review. *Journal of Materials Research and Technology*, **20** (2022) 4630–4658. <https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2022.08.166>.
 76. C. C. Schmitt, R. Moreira, R. C. Neves, D. Richter, A. Funke, K. Raffelt, J. D. Grunwaldt, & N. Dahmen, From agriculture residue to upgraded product: The thermochemical conversion of sugarcane bagasse for fuel and chemical products. *Fuel Processing Technology*, **197** (2020) 106199. <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2019.106199>.
 77. F. Cherubini & S. Ulgiati, Crop residues as raw materials for biorefinery systems - A LCA case study. *Applied Energy*, **87** (2010) 47–57. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2009.08.024>.
 78. S. G. C. de Almeida, V. T. F. Silva, J. P. de Souza, C. D. Prado, D. K. S. Oliveira, D. D. V. Silva, & K. J. Dussán, Methods for Hemicellulose Deconstruction Aiming to Xylose Recovery: Recent Progress and Future Perspectives. In M. das G. de Almeida Felipe, & A.K. Chandel, eds., *Curr. Adv. Biotechnol. Prod. Xylitol Ferment. Prod. Xylitol* (Cham: Springer International Publishing, 2022), pp. 1–31. https://doi.org/10.1007/978-3-031-04942-2_1.
 79. M. B. W. Saad & A. R. Gonçalves, Industrial pretreatment of lignocellulosic biomass: A review of the early and recent efforts to scale-up pretreatment systems and the current challenges. *Biomass and Bioenergy*, **190** (2024) 1–32. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2024.107426>.
 80. N. Raina, R. Boonmee, S. Kirdponpattara, M. Narasingha, M. Sriariyanun,

- P. Phitsuwan, & S. Chuetor, Process performance evaluation of different chemical pretreatments of lignocellulosic biomass for bioethanol production. *Industrial Crops and Products*, **211** (2024) 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2024.118207>.
81. S. I. Mussatto & N. Bikaki, Technoeconomic Considerations for Biomass Fractionation in a Biorefinery Context. *Biomass Fractionation Technol. a Lignocellul. Feed. Based Biorefinery* (Elsevier Inc., 2016), pp. 587–610. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802323-5.00025-6>.
 82. E. Temiz & O. Akpinar, The Effect of Severity Factor on the Release of Xylose and Phenolics from Rice Husk and Rice Straw. *Waste and Biomass Valorization*, **8** (2017) 505–516. <https://doi.org/10.1007/s12649-016-9608-Z>.
 83. O. Yildirim, D. Tunay, B. Ozkaya, & A. Demir, Optimization of oxalic and sulphuric acid pretreatment conditions to produce bio-hydrogen from olive tree biomass. *International Journal of Hydrogen Energy*, **47** (2022) 26316–26325. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2021.11.017>.
 84. M. A. Kärcher, Y. Iqbal, I. Lewandowski, & T. Senn, Comparing the performance of Miscanthus x giganteus and wheat straw biomass in sulfuric acid based pretreatment. *Bioresource Technology*, **180** (2015) 360–364. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.12.107>.
 85. A. M. Shabbirahmed, D. Haldar, P. Dey, A. K. Patel, R. R. Singhanian, C. Di Dong, & M. K. Purkait, Sugarcane bagasse into value-added products: a review. *Environmental Science and Pollution Research*, **29** (2022) 62785–62806. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-21889-1>.
 86. P. Siripong, P. Duangporn, E. Takata, & Y. Tsutsumi, Phosphoric acid pretreatment of Achyranthes aspera and Sida acuta weed biomass to improve enzymatic hydrolysis. *Bioresource Technology*, **203** (2016) 303–308. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.12.037>.
 87. I. Kim, B. Lee, J. Y. Park, S. A. Choi, & J. I. Han, Effect of nitric acid on pretreatment and fermentation for enhancing ethanol production of rice straw. *Carbohydrate Polymers*, **99** (2014) 563–567. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.08.092>.
 88. S. P. Bansod, K. Makwana, P. K. Sarangi, & J. K. Parikh, Advanced pretreatment processes for lignocellulosic biomass to biofuels production:

- Path towards circular bioeconomy. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, **39** (2024) 1–43. <https://doi.org/10.1016/j.scp.2024.101514>.
89. C. Cai, K. Hirth, R. Gleisner, H. Lou, X. Qiu, & J. Y. Zhu, Maleic acid as a dicarboxylic acid hydrotrope for sustainable fractionation of wood at atmospheric pressure and ≤ 100 °C: Mode and utility of lignin esterification. *Green Chemistry*, **22** (2020) 1605–1617. <https://doi.org/10.1039/c9gc04267a>.
 90. M. Mennani, A. Ait Benhamou, M. Kasbaji, A. Boussetta, E. H. Ablouh, Z. Kassab, M. El Achaby, N. Boussetta, N. Grimi, & A. Moubarik, Insights on the physico-chemical properties of alkali lignins from different agro-industrial residues and their use in phenol-formaldehyde wood adhesive formulation. *International Journal of Biological Macromolecules*, **221** (2022) 149–162. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.08.191>.
 91. V. K. Vaithyanathan, B. Goyette, & R. Rajagopal, A critical review of the transformation of biomass into commodity chemicals: Prominence of pretreatments. *Environmental Challenges*, **11** (2023) 1–20. <https://doi.org/10.1016/j.envc.2023.100700>.
 92. K. Özdenkçi, C. De Blasio, H. R. Muddassar, K. Melin, P. Oinas, J. Koskinen, G. Sarwar, & M. Järvinen, A novel biorefinery integration concept for lignocellulosic biomass. *Energy Conversion and Management*, **149** (2017) 974–987. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2017.04.034>.
 93. L. Sharma, N. M. Alam, S. Roy, P. Satya, G. Kar, S. Ghosh, T. Goswami, & B. Majumdar, Optimization of alkali pretreatment and enzymatic saccharification of jute (*Corchorus olitorius* L.) biomass using response surface methodology. *Bioresource Technology*, **368** (2023) 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.128318>.
 94. E. Melro, A. Filipe, D. Sousa, A. J. M. Valente, A. Romano, F. E. Antunes, & B. Medronho, Dissolution of kraft lignin in alkaline solutions. *International Journal of Biological Macromolecules*, **148** (2020) 688–695. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.01.153>.
 95. K. Liu, H. Du, T. Zheng, W. Liu, M. Zhang, H. Liu, X. Zhang, & C. Si, Lignin-containing cellulose nanomaterials: Preparation and applications. *Green Chemistry*, **23** (2021) 9723–9746. <https://doi.org/10.1039/d1gc02841c>.
 96. Z. Liu, E. Shi, F. Ma, & K. Jiang, An integrated biorefinery process for co-

- production of xylose and glucose using maleic acid as efficient catalyst. *Bioresource Technology*, **325** (2021). <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.124698>.
97. M. Spagnuolo, A. Yaguchi, & M. Blenner, ScienceDirect Oleaginous yeast for biofuel and oleochemical production. *Current Opinion in Biotechnology*, **57** (2019) 73–81. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2019.02.011>.
 98. R. Saini, C. S. Osorio-Gonzalez, K. Hegde, S. K. Brar, & P. Vezina, Effect of creating a fed-batch like condition using carbon to nitrogen ratios on lipid accumulation in *Rhodospiridium toruloides*-1588. *Bioresource Technology*, **337** (2021). <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125354>.
 99. C. Hu, S. Wu, Q. Wang, G. Jin, H. Shen, & Z. K. Zhao, Simultaneous utilization of glucose and xylose for lipid production by *Trichosporon cutaneum*. *Biotechnology for Biofuels*, **4** (2011) 2–8. <https://doi.org/10.1186/1754-6834-4-25>.
 100. D. Batista Meneses, G. Montes de Oca-Vásquez, J. R. Vega-Baudrit, M. Rojas-Álvarez, J. Corrales-Castillo, & L. C. Murillo-Araya, Pretreatment methods of lignocellulosic wastes into value-added products: recent advances and possibilities. *Biomass Conversion and Biorefinery*, (2020). <https://doi.org/10.1007/s13399-020-00722-0>.
 101. Q. Liu, W. Li, Q. Ma, S. An, M. Li, H. Jameel, & H. M. Chang, Pretreatment of corn stover for sugar production using a two-stage dilute acid followed by wet-milling pretreatment process. *Bioresource Technology*, **211** (2016) 435–442. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.03.131>.
 102. M. J. Pinheiro, N. Bonturi, I. Belouah, E. A. Miranda, & P. J. Lahtvee, Xylose Metabolism and the Effect of Oxidative Stress on Lipid and Carotenoid Production in *Rhodotorula toruloides*: Insights for Future Biorefinery. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, **8** (2020) 1–15. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.01008>.
 103. W. G. Morais, T. F. Pacheco, P. S. Corrêa, A. A. Martins, T. M. Mata, & N. S. Caetano, *Acid pretreatment of sugarcane biomass to obtain hemicellulosic hydrolysis rich in fermentable sugar* (Elsevier Ltd, 2020). <https://doi.org/10.1016/j.egyr.2020.10.015>.
 104. Y. Zhao, B. Song, J. Li, & J. Zhang, *Rhodotorula toruloides*: an ideal microbial cell factory to produce oleochemicals, carotenoids, and other

- products. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, **38** (2022) 1–19. <https://doi.org/10.1007/s11274-021-03201-4>.
105. X. Zhao, F. Peng, W. Du, C. Liu, & D. Liu, Effects of some inhibitors on the growth and lipid accumulation of oleaginous yeast *Rhodospiridium toruloides* and preparation of biodiesel by enzymatic transesterification of the lipid. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, **35** (2012) 993–1004. <https://doi.org/10.1007/s00449-012-0684-6>.
 106. J. Kim, H. F. Son, S. Hwang, G. Gong, J. K. Ko, Y. Um, S. O. Han, & S. M. Lee, Improving Lipid Production of *Yarrowia lipolytica* by the Aldehyde Dehydrogenase-Mediated Furfural Detoxification. *International Journal of Molecular Sciences*, **23** (2022) 1–13. <https://doi.org/10.3390/ijms23094761>.
 107. S. Wang, X. Sun, & Q. Yuan, Strategies for enhancing microbial tolerance to inhibitors for biofuel production : A review. *Bioresource Technology*, **258** (2018) 302–309. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.03.064>.
 108. Z. Liu, M. Fels, G. Dragone, & S. I. Mussatto, Effects of inhibitory compounds derived from lignocellulosic biomass on the growth of the wild-type and evolved oleaginous yeast *Rhodospiridium toruloides*. *Industrial Crops and Products*, **170** (2021). <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113799>.
 109. H. Guo, Y. Zhao, J. S. Chang, & D. J. Lee, Inhibitor formation and detoxification during lignocellulose biorefinery: A review. *Bioresource Technology*, **361** (2022). <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.127666>.
 110. F. Monlau, C. Sambusiti, A. Barakat, M. Quéméneur, E. Trably, J. P. Steyer, & H. Carrère, Do furanic and phenolic compounds of lignocellulosic and algae biomass hydrolyzate inhibit anaerobic mixed cultures? A comprehensive review. *Biotechnology Advances*, **32** (2014) 934–951. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2014.04.007>.
 111. A. K. Chandel, S. Silvério, & O. V Singh, Detoxification of Lignocellulose Hydrolysates : Biochemical and Metabolic Engineering Toward White Biotechnology. *Bioenergy Research*, **6** (2013) 388–401. <https://doi.org/10.1007/s12155-012-9241-z>.
 112. W. Parawira & M. Tekere, Biotechnological strategies to overcome inhibitors in lignocellulose hydrolysates for ethanol production : review

- Biotechnological strategies to overcome inhibitors in lignocellulose hydrolysates for ethanol production: review. *Critical Reviews in Biotechnology*, **31** (2010) 20–31. <https://doi.org/10.3109/07388551003757816>.
113. B. Basak, B. Jeon, T. Hyun, J. Lee, P. Kumar, & H. Lim, Dark fermentative hydrogen production from pretreated lignocellulosic biomass: Effects of inhibitory byproducts and recent trends in mitigation strategies. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, **133** (2020). <https://doi.org/10.1016/j.rser.2020.110338>.
 114. P. Shaigani, D. Awad, V. Redai, M. Fuchs, M. Haack, N. Mehlmer, & T. Brueck, Oleaginous yeasts- substrate preference and lipid productivity: a view on the performance of microbial lipid producers. *Microbial Cell Factories*, **20** (2021) 1–18. <https://doi.org/10.1186/s12934-021-01710-3>.
 115. C. Dias, B. P. Nobre, J. A. L. Santos, T. Lopes da Silva, & A. Reis, Direct lipid and carotenoid extraction from *Rhodospiridium toruloides* broth culture after high pressure homogenization cell disruption: Strategies, methodologies, and yields. *Biochemical Engineering Journal*, **189** (2022) 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2022.108712>.
 116. C. S. Osorio-González, R. Saini, K. Hegde, S. K. Brar, & A. Avalos Ramirez, Furfural degradation and its effect on *Rhodospiridium toruloides*-1588 during microbial growth and lipid accumulation. *Bioresource Technology*, **359** (2022). <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.127496>.
 117. C. S. Osorio-González, K. Hegde, P. Ferreira, S. K. Brar, A. Kermanshahipour, C. R. Soccol, & A. Avalos-Ramírez, Lipid production in *Rhodospiridium toruloides* using C-6 and C-5 wood hydrolysate: A comparative study. *Biomass and Bioenergy*, **130** (2019). <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2019.105355>.
 118. A. Chattopadhyay, M. Mitra, & M. K. Maiti, Recent advances in lipid metabolic engineering of oleaginous yeasts. *Biotechnology Advances*, (2021). <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2021.107722>.
 119. C. Naveira-Pazos, M. C. Veiga, & C. Kennes, *Clostridium carboxidivorans* and *Rhodospiridium toruloides* as a platform for the valorization of carbon dioxide to microbial oils. *Chemosphere*, **365** (2024) 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2024.143345>.

120. S. J. Xue, X. C. Li, J. Liu, X. T. Zhang, Z. Z. Xin, W. W. Jiang, & J. Y. Zhang, Efficient sugar utilization and high tolerance to inhibitors enable *Rhodotorula toruloides* C23 to robustly produce lipid and carotenoid from lignocellulosic feedstock. *Bioresource Technology*, **407** (2024) 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2024.131146>.
121. Z. Efsun, D. Özdamar, V. A. P. Martins, J. Hugenholtz, & M. S. Diez, Tailoring and optimizing fatty acid production by oleaginous yeasts through the systematic exploration of their physiological fitness. *Microbial Cell Factories*, (2022) 1–13. <https://doi.org/10.1186/s12934-022-01956-5>.
122. M. A. Sundaramahalingam, P. Sivashanmugam, J. Rajeshbanu, & M. Ashokkumar, A review on contemporary approaches in enhancing the innate lipid content of yeast cell. *Chemosphere*, **293** (2022). <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.133616>.
123. E. E. Karamerou & C. Webb, Cultivation modes for microbial oil production using oleaginous yeasts – A review. *Biochemical Engineering Journal*, **151** (2019) 2–16. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2019.107322>.
124. W. Bao, Z. Li, X. Wang, R. Gao, X. Zhou, S. Cheng, Y. Men, & L. Zheng, Approaches to improve the lipid synthesis of oleaginous yeast *Yarrowia lipolytica*: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, **149** (2021). <https://doi.org/10.1016/j.rser.2021.111386>.
125. S. Qadeer, A. Khalid, S. Mahmood, M. Anjum, & Z. Ahmad, Utilizing oleaginous bacteria and fungi for cleaner energy production. *Journal of Cleaner Production*, **168** (2017) 917–928. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.09.093>.
126. H. J. S. Lopes, N. Bonturi, E. J. Kerkhoven, E. A. Miranda, & P. J. Lahtee, C/N ratio and carbon source-dependent lipid production profiling in *Rhodotorula toruloides*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **104** (2020) 2639–2649. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10386-5>.
127. M. K. Islam, H. Wang, S. Rehman, C. Dong, H. Y. Hsu, C. S. K. Lin, & S. Y. Leu, Sustainability metrics of pretreatment processes in a waste derived lignocellulosic biomass biorefinery. *Bioresource Technology*, **298** (2020). <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122558>.
128. J. P. F. Vieira, J. L. Ienczak, C. E. V. Rossell, J. G. C. Pradella, & T. T. Franco, Microbial lipid production: screening with yeasts grown on Brazilian

- molasses. *Biotechnology Letters*, **36** (2014) 2433–2442. <https://doi.org/10.1007/s10529-014-1624-0>.
129. P. Nandal, S. Sharma, & A. Arora, Bioprospecting non-conventional yeasts for ethanol production from rice straw hydrolysate and their inhibitor tolerance. *Renewable Energy*, **147** (2020) 1694–1703. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2019.09.067>.
 130. G. W. Park, S. Shin, S. J. Kim, J. S. Lee, M. Moon, & K. Min, Rice straw-derived lipid production by HMF/furfural-tolerant oleaginous yeast generated by adaptive laboratory evolution. *Bioresource Technology*, **367** (2023) 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.128220>.
 131. C. S. Osorio-González, R. Saini, K. Hegde, S. K. Brar, & A. Avalos Ramirez, Furfural degradation and its effect on *Rhodospiridium toruloides*-1588 during microbial growth and lipid accumulation. *Bioresource Technology*, **359** (2022) 2–7. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.127496>.
 132. E. L. M. Almeida, R. Z. Ventrone, M. A. M. Ferreira, M. D. Costa, H. C. Mantovani, & W. B. Silveira, New *Papiliotrema laurentii* UFV-1 strains with improved acetic acid tolerance selected by adaptive laboratory evolution. *Fungal Genetics and Biology*, **164** (2023) 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2022.103765>.
 133. Y. Sha, L. Zhou, Z. Wang, Y. Ding, M. Lu, Z. Xu, R. Zhai, & M. Jin, Adaptive laboratory evolution boosts *Yarrowia lipolytica* tolerance to vanillic acid. *Journal of Biotechnology*, **367** (2023) 42–52. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2023.03.006>.
 134. N. Bonturi, A. Crucello, A. J. C. Viana, & E. A. Miranda, Microbial oil production in sugarcane bagasse hemicellulosic hydrolysate without nutrient supplementation by a *Rhodospiridium toruloides* adapted strain. *Process Biochemistry*, **57** (2017) 16–25. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2017.03.007>.
 135. J. N. Nigam, Development of xylose-fermenting yeast *Pichia stipitis* for ethanol production through adaptation on hardwood hemicellulose acid prehydrolysate. *Journal of Applied Microbiology*, **90** (2001) 208–215. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2001.01234.x>.
 136. I. A. Tiukova, J. Brandenburg, J. Blomqvist, S. Sampels, N. Mikkelsen, M.

- Skaugen, M. O. Arntzen, J. Nielsen, M. Sandgren, & E. J. Kerkhoven, Proteome analysis of xylose metabolism in *Rhodotorula toruloides* during lipid production. *Biotechnology for Biofuels*, **12** (2019) 1–17. <https://doi.org/10.1186/s13068-019-1478-8>.
137. G. Singh, S. Sinha, K. K. Bandyopadhyay, M. Lawrence, & D. Paul, Triauxic growth of an oleaginous red yeast *Rhodospiridium toruloides* on waste “extract” for enhanced and concomitant lipid and β -carotene production. *Microbial Cell Factories*, **17** (2018) 1–10. <https://doi.org/10.1186/s12934-018-1026-4>.
 138. F. Xue, J. Miao, X. Zhang, H. Luo, & T. Tan, Studies on lipid production by *Rhodotorula glutinis* fermentation using monosodium glutamate wastewater as culture medium. *Bioresource Technology*, **99** (2008) 5923–5927. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.04.046>.
 139. Z. Liu, A. M. Feist, G. Dragone, & S. I. Mussatto, Lipid and carotenoid production from wheat straw hydrolysates by different oleaginous yeasts. *Journal of Cleaner Production*, **249** (2020). <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.119308>.
 140. T. Díaz, S. Fillet, S. Campoy, R. Vázquez, J. Viña, J. Murillo, & J. L. Adrio, Combining evolutionary and metabolic engineering in *Rhodospiridium toruloides* for lipid production with non-detoxified wheat straw hydrolysates. *Appl Microbiol Biotechnol*, **102** (2018) 3287–3300.
 141. R. Saini, C. S. Osorio-Gonzalez, K. Hegde, S. Kaur Brar, & P. Vezina, A co-fermentation strategy with wood hydrolysate and crude glycerol to enhance the lipid accumulation in *Rhodospiridium toruloides*-1588. *Bioresource Technology*, **364** (2022). <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.127821>.
 142. C. S. Osorio-González, R. Saini, K. Hegde, S. K. Brar, A. Lefebvre, & A. Avalos Ramirez, Carbon/nitrogen ratio as a tool to enhance the lipid production in *Rhodospiridium toruloides*-1588 using C5 and C6 wood hydrolysates. *Journal of Cleaner Production*, **384** (2023) 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2022.135687>.
 143. F. B. Ahmad, Z. Zhang, W. O. S. Doherty, & I. M. O’Hara, The prospect of microbial oil production and applications from oil palm biomass. *Biochemical Engineering Journal*, **143** (2019) 9–23.

<https://doi.org/10.1016/j.bej.2018.12.003>.

144. S. S. Jagtap & C. V. Rao, Production of d-arabitol from d-xylose by the oleaginous yeast *Rhodospiridium toruloides* IFO0880. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **102** (2018) 143–151. <https://doi.org/10.1007/s00253-017-8581-1>.
145. J. M. Ageitos, J. A. Vallejo, P. Veiga-crespo, & T. G. Villa, Oily yeasts as oleaginous cell factories. *Appl Microbiol Biotechnol*, **90** (2011) 1219–1227. <https://doi.org/10.1007/s00253-011-3200-z>.
146. H. J. S. Lopes, N. Bonturi, & E. A. Miranda, *Rhodotorula toruloides* single cell oil production using eucalyptus urograndis hemicellulose hydrolysate as a carbon source. *Energies*, **13** (2020) 1–11. <https://doi.org/10.3390/en13040795>.
147. M. Pędzik, D. Janiszewska, & T. Rogoziński, Alternative lignocellulosic raw materials in particleboard production: A review. *Industrial Crops and Products*, **174** (2021) 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.114162>.
148. X. Shi, S. Gao, C. Jin, D. Zhang, C. Lai, C. Wang, F. Chu, A. J. Ragauskas, & M. Li, A facile strategy to fabricate a lignin-based thermoset alternative to formaldehyde-based wood adhesives. *Green Chemistry*, **25** (2023) 5907–5915. <https://doi.org/10.1039/d3gc00763d>.
149. N. Cangussu, P. Chaves, W. da Rocha, & L. Maia, Particleboard panels made with sugarcane bagasse waste—an exploratory study. *Environmental Science and Pollution Research*, **30** (2023) 25265–25273. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-16907-7>.
150. S. H. Ghaffar & M. Fan, Lignin in straw and its applications as an adhesive. *International Journal of Adhesion and Adhesives*, **48** (2014) 92–101. <https://doi.org/10.1016/j.ijadhadh.2013.09.001>.
151. M. Mujtaba, L. Fernandes Fraceto, M. Fazeli, S. Mukherjee, S. M. Savassa, G. Araujo de Medeiros, A. do Espírito Santo Pereira, S. D. Mancini, J. Lipponen, & F. Vilaplana, Lignocellulosic biomass from agricultural waste to the circular economy: a review with focus on biofuels, biocomposites and bioplastics. *Journal of Cleaner Production*, **402** (2023) 1–23. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2023.136815>.
152. X. Dong, W. Gan, Y. Shang, J. Tang, Y. Wang, Z. Cao, Y. Xie, J. Liu, L. Bai, J. Li, & O. J. Rojas, Low-value wood for sustainable high-performance

- structural materials. *Nature Sustainability*, **5** (2022) 628–635. <https://doi.org/10.1038/s41893-022-00887-8>.
153. J. Song, C. Chen, S. Zhu, M. Zhu, J. Dai, U. Ray, Y. Li, Y. Kuang, Y. Li, N. Quispe, Y. Yao, A. Gong, U. H. Leiste, H. A. Bruck, J. Y. Zhu, A. Vellore, H. Li, M. L. Minus, Z. Jia, A. Martini, T. Li, & L. Hu, *Processing bulk natural wood into a high-performance structural material* (Nature Publishing Group, 2018). <https://doi.org/10.1038/nature25476>.
 154. P. Fratzl, *Wood made denser and stronger* (2018). <https://doi.org/10.1038/d41586-018-01371-0>.
 155. S. Qin, K. Liu, D. Ren, Y. Zhai, S. Zhang, H. Liu, H. Ma, C. Zhao, F. Huang, & X. Zhou, All-natural and high-performance structural material based on lignin-reinforced cellulose. *Materials Today Communications*, **36** (2023) 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2023.106559>.
 156. H. Huo, F. Song, Y. Yang, L. Zhang, X. Zhang, J. Zhang, K. Yue, & Z. Zhang, Preparation of Environmentally Friendly Glueless Boxwood Timber by Acidic Environmental Treatment and High-Temperature Pressing. *Polymers*, **15** (2023) 1–12. <https://doi.org/10.3390/polym15010011>.
 157. W. N. A. Wan Nadhari, M. Danish, S. N. A. B. Abdullah, A. M. Alanazi, N. A. Karim, & A. Mustapha, Effect of potato starch on surface characteristics, mechanical, physical, and chemical binding mechanism of kenaf binderless particleboard. *Industrial Crops and Products*, **212** (2024) 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2024.118300>.
 158. J. Shi, T. Zhong, X. Xu, J. Wu, Y. Zou, B. Fei, C. Xia, & H. Chen, Eco-friendly and special-shaped bamboo binderless fiberboards fabricated by self-bonding technology: Effect of bamboo fibers with different sizes. *Industrial Crops and Products*, **194** (2023) 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2023.116300>.
 159. S. Gao, J. Zhao, C. Yang, Y. Zhang, Y. Fu, A. Zhang, X. Yang, Z. Wang, & G. Tian, Synthesis of lignin-based polyurethane (LPU) and fabrication of degradable mulch film through LPU coating on cellulose paper. *Industrial Crops and Products*, **210** (2024) 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2024.118099>.
 160. B. Danielson & R. Simonson, Kraft lignin in phenol formaldehyde resin. Part 2. Evaluation of an industrial trial. *Journal of Adhesion Science and*

161. Y. Yang, L. Zhang, J. J. Zhang, Y. Ren, H. F. Huo, X. Zhang, K. Huang, & Z. Zhang, Reengineering Waste Boxwood Powder into Light and High-Strength Biodegradable Composites to Replace Petroleum-Based Synthetic Materials. *ACS Applied Materials and Interfaces*, **15** (2023) 4505–4515. <https://doi.org/10.1021/acsami.2c19844>.
162. H. Ye, Y. Wang, Q. Yu, S. Ge, W. Fan, M. Zhang, Z. Huang, M. Manzo, L. Cai, L. Wang, & C. Xia, Bio-based composites fabricated from wood fibers through self-bonding technology. *Chemosphere*, **287** (2022) 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132436>.
163. R. Shorey, A. Salaghi, P. Fatehi, & T. H. Mekonnen, Valorization of lignin for advanced material applications: a review. *RSC Sustainability*, **2** (2024) 804–831. <https://doi.org/10.1039/d3su00401e>.
164. Y. Yang, Y. Guan, C. Li, T. Xu, L. Dai, J. Xu, & C. Si, Application and carbon footprint evaluation of lignin-based composite materials. *Advanced Composites and Hybrid Materials*, **7** (2024) 1–24. <https://doi.org/10.1007/s42114-024-00873-y>.
165. D. Zhang, A. Zhang, & L. Xue, A review of preparation of binderless fiberboards and its self-bonding mechanism. *Wood Science and Technology*, **49** (2015) 661–679. <https://doi.org/10.1007/s00226-015-0728-6>.
166. R. Arévalo & T. Peijs, Binderless all-cellulose fibreboard from microfibrillated lignocellulosic natural fibres. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*, **83** (2016) 38–46. <https://doi.org/10.1016/j.compositesa.2015.11.027>.
167. Y. Zhong, Y. Ren, Y. Yang, H. Huo, L. Zhang, J. Zhang, K. Yue, & Z. Zhang, Formaldehyde-free environmentally friendly lignocellulosic composites made from poplar and lignin obtained from paper mills. *Industrial Crops and Products*, **208** (2024) 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2023.117907>.
168. W. N. A. W. Nadhari, M. Danish, S. N. A. B. Abdullah, A. M. Alanazi, N. A. Karim, & A. Mustapha, Effect of potato starch on surface characteristics, mechanical, physical, and chemical binding mechanism of kenaf binderless particleboard. *Industrial Crops and Products*, **212** (2024) 1–9.

- <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2024.118300>.
169. T. Dong, W. Chen, C. Cai, F. Bai, Z. Zhou, J. Wang, & X. Li, Water-stable, strong, biodegradable lignocellulose straws replacement for plastic straws. *Chemical Engineering Journal*, **451** (2023) 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.138970>.
 170. D. Cheng, H. Ding, B. Xu, & T. Li, Suitability of thermally modified wood for binderless particleboard production: Effects of temperature and moisture content in hot pressing. *Industrial Crops and Products*, **221** (2024) 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2024.119376>.
 171. R. Liu, L. Long, Y. Sheng, J. Xu, H. Qiu, X. Li, Y. Wang, & H. Wu, Preparation of a kind of novel sustainable mycelium/cotton stalk composites and effects of pressing temperature on the properties. *Industrial Crops and Products*, **141** (2019) 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111732>.
 172. B. Jiang, C. Chen, Z. Liang, S. He, Y. Kuang, J. Song, R. Mi, G. Chen, M. Jiao, & L. Hu, Lignin as a Wood-Inspired Binder Enabled Strong, Water Stable, and Biodegradable Paper for Plastic Replacement. *Advanced Functional Materials*, **30** (2020) 1–11. <https://doi.org/10.1002/adfm.201906307>.
 173. M. N. Collins, M. Nechifor, F. Tanasă, M. Zănoagă, A. McLoughlin, M. A. Stróżyk, M. Culebras, & C. A. Teacă, Valorization of lignin in polymer and composite systems for advanced engineering applications – A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, **131** (2019) 828–849. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.03.069>.
 174. S. Vigneshwaran, R. Sundarakannan, K. M. John, R. D. Joel Johnson, K. A. Prasath, S. Ajith, V. Arumugaprabu, & M. Uthayakumar, Recent advancement in the natural fiber polymer composites: A comprehensive review. *Journal of Cleaner Production*, **277** (2020) 1–23. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.124109>.
 175. E. Kaffashsaei, H. Yousefi, T. Nishino, T. Matsumoto, M. Mashkour, & M. Madhoushi, Simultaneous/direct chemomechanical densification and downsizing of weak paulownia wood to produce a strong, unidirectional, all-wooden nanocomposite. *Polymer Journal*, **55** (2023) 691–702. <https://doi.org/10.1038/s41428-023-00766-9>.

176. J. Ruwoldt, F. H. Blindheim, & G. Chinga-Carrasco, Functional surfaces, films, and coatings with lignin - a critical review. *RSC Advances*, **13** (2023) 12529–12553. <https://doi.org/10.1039/d2ra08179b>.
177. Y. Ren, Y. Yang, J. Zhang, S. Ge, H. Ye, Y. Shi, C. Xia, Y. Sheng, & Z. Zhang, Innovative Conversion of Pretreated Buxus sinica into High-Performance Biocomposites for Potential Use as Furniture Material. *ACS Applied Materials and Interfaces*, **14** (2022) 47176–47187. <https://doi.org/10.1021/acsami.2c15649>.
178. X. Wang, Z. Pang, C. Chen, Q. Xia, Y. Zhou, S. Jing, R. Wang, U. Ray, W. Gan, C. Li, G. Chen, B. Foster, T. Li, & L. Hu, All-Natural, degradable, rolled-up straws based on cellulose micro- and nano-hybrid fibers. *Advanced Functional Materials*, **30** (2020) 1–9. <https://doi.org/10.1002/adfm.201910417>.
179. W. N. A. W. Nadhari, N. A. Karim, J. G. Boon, K. M. Salleh, A. Mustapha, R. Hashim, O. Sulaiman, & M. E. Azni, Sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) bagasse binderless particleboard: Effect of hot pressing time study. *Materials Today: Proceedings*, **31** (2020) 313–317. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.06.016>.
180. J. Domínguez-Robles, Q. Tarrés, M. Delgado-Aguilar, A. Rodríguez, F. X. Espinach, & P. Mutjé, Approaching a new generation of fiberboards taking advantage of self lignin as green adhesive. *International Journal of Biological Macromolecules*, **108** (2018) 927–935. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.11.005>.
181. H. B. Yang, Z. X. Liu, H. Chen, X. Yue, Z. C. Ling, Z. M. Han, C. H. Yin, Y. H. Ruan, X. Zhao, Z. Zhou, D. H. Li, S. Xie, K. P. Yang, Q. F. Guan, & S. H. Yu, An all-natural fire-resistant bioinspired cellulose-based structural material by external force-induced assembly. *Materials Today Nano*, **23** (2023) 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.mtnano.2023.100342>.
182. D. L. Faria, F. G. Gonçalves, F. D. Maffioletti, M. V. Scatolino, J. Soriano, T. de P. Protásio, Y. M. Lopez, J. B. Paes, L. M. Mendes, J. B. Guimarães Junior, & G. H. D. Tonoli, Particleboards based on agricultural and agroforestry wastes glued with vegetal polyurethane adhesive: An efficient and eco-friendly alternative. *Industrial Crops and Products*, **214** (2024) 1–17. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2024.118540>.

183. Y. Yang, L. Zhang, J. J. Zhang, Y. Ren, H. F. Huo, X. Zhang, K. Huang, M. Rezakazemi, & Z. Zhang, Fabrication of environmentally, high-strength, fire-retardant biocomposites from small-diameter wood lignin in situ reinforced cellulose matrix. *Advanced Composites and Hybrid Materials*, **6** (2023) 1–13. <https://doi.org/10.1007/s42114-023-00721-5>.
184. A. Sluiter, B. Hames, R. Ruiz, C. Scarlata, J. Sluiter, D. Templeton, & D. C. Nrel, Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass. (2012).
185. M. R. Lopes, Leveduras fermentadoras de ceboliose isoladas de ecossistemas Brasileiros, Universidade Federal de Minas Gerais, 2015.
186. J. FOLCH, M. LEES, & G. H. SLOANE STANLEY, A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *The Journal of biological chemistry*, **226** (1957) 497–509. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(18\)64849-5](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(18)64849-5).
187. K. J. Dussán, D. D. V Silva, V. H. Perez, & S. S. da Silva, Evaluation of oxygen availability on ethanol production from sugarcane bagasse hydrolysate in a batch bioreactor using two strains of xylose-fermenting yeast. *Renewable Energy*, **87** (2016) 703–710. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2015.10.065>.
188. E. R. . Gouveia, R. T. . Nascimento, A. M. . Souto-Maior, & G. J. M. . Rocha, Validação de metodologia para a caracterização química de bagaço de cana-de-açúcar. *Quimica Nova*, **32** (2009) 1500–1503.
189. M. L. . Shuler & F. Kargi, *Bioprocess engineering: Basic concepts* (2002). [https://doi.org/10.1016/0168-3659\(92\)90106-2](https://doi.org/10.1016/0168-3659(92)90106-2).
190. Y. Li, S. Zhao, X. Song, D. Cao, K. Li, M. Hassanpour, & Z. Zhang, UV-Shielding Performance and Color of Lignin and its Application to Sunscreen. *Macromolecular Materials and Engineering*, **307** (2022) 1–11. <https://doi.org/10.1002/mame.202100628>.
191. M. Hassanpour, M. Abbasabadi, J. Strong, L. Gebbie, V. S. J. Te'o, I. M. O'Hara, & Z. Zhang, Scale-up of two-step acid-catalysed glycerol pretreatment for production of oleaginous yeast biomass from sugarcane bagasse by *Rhodospiridium toruloides*. *Bioresource Technology*, **313** (2020) 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123666>.
192. M. Goyal, M. Hassanpour, A. A. B. Carneiro, L. Moghaddam, C. Shi, X.

- Song, & Z. Zhang, Lignin nanoparticles enable and improve multiple functions of photonic films derived from cellulose nanocrystals. *Journal of Colloid and Interface Science*, **680** (2025) 492–504. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2024.11.143>.
193. M. Hassanpour, M. Abbasabadi, L. Gebbie, V. S. J. Te'O, I. M. O'Hara, & Z. Zhang, Acid-Catalyzed Glycerol Pretreatment of Sugarcane Bagasse: Understanding the Properties of Lignin and Its Effects on Enzymatic Hydrolysis. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, **8** (2020) 10380–10388. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.0c01832>.
 194. L. Astari, B. Belleville, B. Ozarska, K. Umemura, R. Crawford, W. B. Kusumaningrum, & M. Ismayati, Performance of self-binding engineered panels made from sweet corn stalks (*Zea mays* L.) for furniture applications. *Bioresource Technology Reports*, **25** (2024) 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2024.101802>.
 195. S. C. Khoo, W. X. Peng, Y. Yang, S. B. Ge, C. F. Soon, N. L. Ma, & C. Sonne, Development of formaldehyde-free bio-board produced from mushroom mycelium and substrate waste. *Journal of Hazardous Materials journal*, **400** (2020) 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123296>.
 196. P. F. Ávila, M. B. S. Forte, & R. Goldbeck, Evaluation of the chemical composition of a mixture of sugarcane bagasse and straw after different pretreatments and their effects on commercial enzyme combinations for the production of fermentable sugars. *Biomass and Bioenergy*, **116** (2018) 180–188. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2018.06.015>.
 197. S. R. Dionísio, D. C. J. Santoro, C. I. D. G. Bonan, L. B. Soares, L. E. Biazzi, S. C. Rabelo, & L. Ienczak, Second-generation ethanol process for integral use of hemicellulosic and cellulosic hydrolysates from diluted sulfuric acid pretreatment of sugarcane bagasse. *Fuel*, **304** (2021). <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2021.121290>.
 198. C. K. Yamakawa, S. T. Rojas, W. E. Herrera, C. E. V. Rossell, M. R. W. Maciel, & R. M. Filho, Recovery and Characterization of Cellulosic Ethanol from Fermentation of Sugarcane Bagasse. *Chemical Engineering Research and Design*, **196** (2023) 568–576. <https://doi.org/10.1016/j.cherd.2023.06.053>.
 199. S. F. Ullah, A. A. Souza, S. M. de Freitas, & E. F. Noronha, Characterisation

- of biomass degrading xylanolytic enzymes of *Penicillium chrysogenum* produced using sugarcane bagasse. *Process Biochemistry*, **112** (2022) 62–70. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2021.11.012>.
200. G. C. Bevilaqua, F. Maugeri Filho, & M. B. S. Forte, Simultaneous production of xylitol and arabitol by *Candida tropicalis* fermentation improving agro-industrial wastes valorization. *Food and Bioprocess Technology*, **140** (2023) 29–45. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2023.04.006>.
 201. A. García, M. G. Alriols, R. Llano-Ponte, & J. Labidi, Ultrasound-assisted fractionation of the lignocellulosic material. *Bioresource Technology*, **102** (2011) 6326–6330. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.02.045>.
 202. J. B. Russell, Another explanation for the toxicity of fermentation acids at low pH: anion accumulation versus uncoupling. *Journal of Applied Bacteriology*, **73** (1992) 363–370. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1992.tb04990.x>.
 203. D. Chu & D. J. Barnes, The lag-phase during diauxic growth is a trade-off between fast adaptation and high growth rate. *Scientific Reports*, **6** (2016) 1–15. <https://doi.org/10.1038/srep25191>.
 204. D. L. Nelson & M. M. Cox, *Princípios de Bioquímica de Lehninger* (2014).
 205. K. Tarasava, S. H. Lee, J. Chen, M. Köpke, M. C. Jewett, & R. Gonzalez, Reverse β -oxidation pathways for efficient chemical production. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, **49** (2022). <https://doi.org/10.1093/jimb/kuac003>.
 206. R. Mans, J. G. Daran, & J. T. Pronk, Under pressure: evolutionary engineering of yeast strains for improved performance in fuels and chemicals production. *Current Opinion in Biotechnology*, **50** (2018) 47–56. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2017.10.011>.
 207. Z. Liu, M. Radi, E. T. T. Mohamed, A. M. Feist, G. Dragone, & S. I. Mussatto, Adaptive laboratory evolution of *Rhodospiridium toruloides* to inhibitors derived from lignocellulosic biomass and genetic variations behind evolution. *Bioresource Technology*, **333** (2021) 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125171>.
 208. J. A. Martins, T. Lopes da Silva, S. Marques, F. Carneiro, L. B. Roseiro, L. C. Duarte, & F. Gírio, The use of flow cytometry to assess *Rhodospiridium toruloides* NCYC 921 performance for lipid production

- using *Miscanthus* sp. hydrolysates. *Biotechnology Reports*, **30** (2021) 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2021.e00639>.
209. L. Matsakas, K. Novak, J. Enman, P. Christakopoulos, & U. Rova, Acetate-detoxification of wood hydrolysates with alkali tolerant *Bacillus* sp. as a strategy to enhance the lipid production from *Rhodospiridium toruloides*. *Bioresource Technology*, **242** (2017) 287–294. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.04.002>.
 210. U. Shakeel, Y. Zhang, C. Liang, W. Wang, & W. Qi, Unrevealing the influence of reagent properties on disruption and digestibility of lignocellulosic biomass during alkaline pretreatment. *International Journal of Biological Macromolecules*, **266** (2024) 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.131193>.
 211. M. G. dos Santos, H. M. Fogarin, D. D. Virginio da Silva, & K. J. Dussán, Bioprocess development for levulinic acid production using sugarcane biomass. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, **33** (2023) 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.scp.2023.101085>.
 212. S. M. N. . de Assumpção, L. A. M. . Pontes, L. S. . de Carvalho, L. M. A. . Campos, J. C. F. . de Andrade, & E. G. da Silva, Artigo Pré-Tratamento Combinado H₂SO₄ /H₂O₂/ NaOH para Obtenção das Frações Lignocelulósicas do Bagaço da Cana-de-Açúcar. *Revista Virtual de Química*, **8** (2016) 803–822. <https://doi.org/10.5935/1984-6835.20160059>.
 213. S. Yasuda, K. Fukushima, & A. Kakehi, Formation and chemical structures of acid-soluble lignin I: Sulfuric acid treatment time and acid-soluble lignin content of hardwood. *Journal of Wood Science*, **47** (2001) 69–72. <https://doi.org/10.1007/BF00776648>.
 214. J. Domínguez-Robles, E. Espinosa, D. Savy, A. Rosal, & A. Rodríguez, Biorefinery Process Combining Specel® Process and Selective Lignin Precipitation using Mineral Acids. *BioResources*, **11** (2016) 7061–7077.
 215. W. Hua, C. Liu, S. bin Wu, & X. hong Li, Analysis of Structural Units and Their Influence on Thermal Degradation of Alkali Lignins. *BioResources*, **11** (2016) 1959–1970. <https://doi.org/10.15376/BIORES.11.1.1959-1970>.
 216. K. Antoun, A. Besserer, R. El Hage, C. Segovia, R. Sonnier, & N. Brosse, Environmentally-friendly, binder-free, non-flammable particleboard with enhanced properties. *Industrial Crops and Products*, **222** (2024) 1–9.

- <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2024.119578>.
217. Y. Ren, Y. Zhong, Y. Yang, H. Huo, L. Zhang, J. Zhang, K. Huang, & Z. Zhang, Green recyclable biocomposite prepared from lignin and bamboo. *Journal of Cleaner Production*, **449** (2024) 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2024.141710>.
 218. A. Najahi, R. J. Aguado, Q. Tarr, S. Boufi, & M. Delgado-aguilar, Industrial Crops & Products Harvesting value from agricultural waste : Dimensionally stable fiberboards and particleboards with enhanced mechanical performance and fire retardancy through the use of lignocellulosic nanofibers. **204** (2023). <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2023.117336>.
 219. S. Ge, H. Ouyang, H. Ye, Y. Shi, Y. Sheng, & W. Peng, High-performance and environmentally friendly acrylonitrile butadiene styrene/wood composite for versatile applications in furniture and construction. *Advanced Composites and Hybrid Materials*, **6** (2023) 1–13. <https://doi.org/10.1007/s42114-023-00628-1>.
 220. J. Shi, J. Peng, Q. Huang, L. Cai, & S. Q. Shi, Fabrication of densified wood via synergy of chemical pretreatment, hot-pressing and post mechanical fixation. *Journal of Wood Science*, **66** (2020) 1–9. <https://doi.org/10.1186/s10086-020-1853-x>.
 221. Z. Ma, Y. Yang, Y. Wu, J. Xu, H. Peng, X. Liu, W. Zhang, & S. Wang, In-depth comparison of the physicochemical characteristics of bio-char derived from biomass pseudo components: Hemicellulose, cellulose, and lignin. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, **140** (2019) 195–204. <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2019.03.015>.
 222. L. Rodier, K. Bilba, C. Onésippe, & M. A. Arsène, Utilization of bio-chars from sugarcane bagasse pyrolysis in cement-based composites. *Industrial Crops and Products*, **141** (2019). <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111731>.

APÊNDICE A - CURVA PADRÃO DAS LEVEDURAS *RHODOSPORIDIUM TORULOIDES* 2781, *RHODOSPORIDIUM TORULOIDES* 2882 E *RHODOSPORIDIUM TORULOIDES* 2896.

